
Library of the Royal College of Physicians Edinburgh
sinit esse

DIE PURPURBAKTERIEN

NACH NEUEN UNTERSUCHUNGEN.

EINE MIKROBIOLOGISCHE STUDIE

VON

PROF. DR. HANS MOLISCH

DIREKTOR DES PFLANZENPHYSIOLOGISCHEN INSTITUTES DER K. K. DEUTSCHEN UNIVERSITÄT IN PRAG.

MIT 4 TAFELN.

SEMPER BONIS ARTIBVS

JENA.
VERLAG VON GUSTAV FISCHER.
1907.

Der Bakteriologe gleicht vielfach einem Gärtner. Sowie dieser sich in die Natur seiner Pflanzen vertiefen und ihre Lebensbedingungen genau erforschen muß, um sie leicht und sicher kultivieren zu können, so muß auch der Bakterienzüchter die Lebensbedürfnisse der Bakterien aufs genaueste ergründen, wenn es ihm gelingen soll, zu Reinkulturen zu kommen. Nur so wird es dem Bakteriologen möglich werden, auch die bisher einer Kultur widerstrebenden Bakterien in die Gewalt zu bekommen und sie im Glase zur Vermehrung zu zwingen.

Vorrede.

Wer mit aufmerksamem Blicke die Fortschritte der Physiologie, insbesondere ihres chemischen Teiles verfolgt, wird alsbald bemerken, daß wir viele der fundamentalsten Tatsachen, die in den letzten Dezennien aufgefunden worden sind, der Bakteriologie zu danken haben. Von ihr ging für die Physiologie eine mächtige Förderung aus. Ich erinnere nur an die Anaërobiose, die Assimilation des freien Stickstoffs, die Assimilation der Kohlensäure durch die Nitrobakterien, an den Prozeß der Nitrifikation, an die kolossale, fast paradox erscheinende Wärmeproduktion der thermogenen Bakterien, an die Lichtentwicklung gewisser Bakterien, an den eigentümlichen Stoffwechsel der Schwefelbakterien und vieles andere.

Eine besondere Aufmerksamkeit von seiten der Physiologen verdienen zweifellos die Purpurbakterien, denn das, was uns die interessanten Untersuchungen Engelmanns und Winogradskys gebracht haben, fordert zu weiteren Studien auf.

Die durch das Licht hervorgerufenen Bewegungen, die sogenannte „Schreckbewegung“, gehören zu den merkwürdigsten Erscheinungen der Mikrobiologie, die eigenartige Färbung der Purpurbakterien, ihre im Gegensatz zu den meisten anderen Bakterien stehende Vorliebe für das Licht und die ihnen von Engelmann zugeschriebene Fähigkeit, Kohlensäure unter Sauerstoffentbindung im Lichte zu assimilieren — all dies würde die Purpurbakterien schon allein zu einer der interessantesten Gruppen von Lebewesen stempeln.

Je mehr ich mich mit dieser Bakterienabteilung beschäftigte, desto mehr sah ich ein, daß unsere einschlägigen Kenntnisse noch sehr lückenhaft sind und daß sie einer weiteren Ausgestaltung und einer gründlichen Revision bedürfen.

Eine nunmehr schon 4 jährige, fast unausgesetzte Beschäftigung mit diesen Organismen ließ mich Erfahrungen sammeln, die teils über das Bekannte hinausgehen, teils mit Angaben früherer Forscher nicht in Einklang zu bringen waren und die Kritik herausforderten. Erfahrungen, die die Naturgeschichte der Purpurbakterien vielleicht auf einer gesicherteren Basis aufzubauen gestatten werden.

Und so übergebe ich denn dieses kleine Werk der Öffentlichkeit mit dem Wunsche, daß die darin niedergelegten neuen Tatsachen und Erwägungen der Bakteriologie und der Physiologie überhaupt zum Nutzen gereichen mögen.

Prag, im Februar 1907.

K. k. pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität.

Hans Molisch.

Inhalt.

I.

Methoden zur leichten und sicheren Beschaffung der Purpurbakterien.

Aus den bisherigen Angaben in der Literatur kann man sich ein ungefähres Bild machen über das Vorkommen und das oft massenhafte Auftreten der Purpurbakterien in der Natur. Die älteren Mitteilungen bis etwa 1840 — aus neuerer Zeit sind nur wenige zu verzeichnen — finden sich in einer sehr anregend geschriebenen und inhaltsreichen Abhandlung von Cohn[1]) zusammengestellt. Schon aus dieser geht hervor, daß die Purpurbakterien entweder in Schwefelthermen oder in brackischen Wässern am Meeresufer oder in Teichen und Tümpeln gefunden werden, wo organische Substanzen faulen.

So fand Ch. Morren in einer Schwefelquelle bei Ougrée an der Maas, welche sich schon in der Ferne durch ihren Schwefelwasserstoffgeruch bemerkbar machte und die untergetauchten Pflanzen mit weißem Schwefel bedeckte, neben Beggiatoen und Oscillarien auch einen rosenroten Organismus (Monas rosea Morren), der wohl eine Purpurbakterie gewesen sein dürfte. Hierher mögen vielleicht auch die roten Organismen gehören, die Fontan und Joly in den Schwefelthermen bei Sales in den Pyrenäen gefunden haben.

Meneghini beschreibt 1842 einen in den Schwefelthermen der Euganeen vorkommenden, äußerst kleinzelligen pfirsichblühroten Organismus, der den Boden als schleimige rotviolette Schicht bedeckte und Cohn fand in dem Ableitungskanal der heißen Schwefelquellen von Tivoli bei Rom am Ponte della Solfatara fleisch- und blutrote, gallertartige Krusten, die er Palmella persicina nannte und die seiner Meinung nach identisch war mit der von Meneghini entdeckten Pflanze.

[1]) Cohn, F., Untersuchungen über Bakterien II. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Herausgegeben von F. Cohn. I. Bd. Breslau 1875, 3. Heft. S. 141.

Die Purpurbakterien kommen häufig mit farblosen Schwefelbakterien vor, doch ist dies durchaus nicht immer der Fall. Winogradsky[1]) machte schon darauf aufmerksam, daß das Vorkommen der Purpurbakterien in den Schwefelquellen bei weitem nicht so konstant ist. wie das der farblosen Schwefelbakterien, wenigstens konnte er in den Schwefelquellen des Bades Langenbrücken (Baden) und in drei Schweizer Quellen beim Thuner-See Purpurbakterien nicht nachweisen. —

In kolossalen Mengen finden sich die Purpurbakterien an der Meeresküste in brackischen Wässern, worauf schon Warming 1876 aufmerksam machte. Nach diesem Forscher traten an den verschiedensten Punkten der Küste von Dänemark an ruhigen Stellen. in Buchten. wo enorme Algen- und Zostera-Massen verwesen, rote Bakterien in so großen Mengen auf, daß das Ufer des Meeres stellenweise intensiv rot gefärbt erscheint. Ja auf Jütland[2]) gibt es eine Bucht, welche die Landleute „das rote Meer“ nennen. Kommt eine Hochflut oder ein Sturm, so verlieren die aufgewühlten faulenden Algenmassen ihre rote Farbe und diese kekrt erst wieder, sobald die Windstille und die Wärme des Sommers die Bildung der Bakterien von neuem ermöglicht haben.

Das massenhafte Vorkommen von Schwefelbakterien wurde in neuerer Zeit auch in der Nähe von Odessa von Jegunow[3]) am Kleylibentalschen Liman beobachtet. „Einige Baien dieses Limans stellen in gewissen Jahren ‚rote‘ Baien im buchstäblichen Sinne des Wortes dar. Hier ist alles — der Boden in einer Tiefe von $^1/_4$—$^1/_2$ m, blattähnliche Ulven, welche hier wachsen oder vom Winde hergetrieben sind — mit einem dichten, bald hellroten, bald ziegelfarbenen, schleimigen oder pulverähnlichen Anflug bedeckt und am äußersten Strande, wo sich schon eine Masse faulender Algen angesammelt hat, und wo sich der im großen Überfluß sich bildende Schwefelwasserstoff in die Atmosphäre ausscheidet, trifft man weißliche Anflüge reinen Schwefels an.“

Auch in süßem Wasser treten Purpurbakterien manchmal in auffallender Weise auf. So beobachtete Hirsch[4]) im März 1874, daß das

[1]) Winogradsky, S., Über Schwefelbakterien. Botan. Zeitg. 1887. S. 493. Derselbe: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft I. Zur Morphologie u. Physiologie der Schwefelbakterien. Leipzig 1888. S. 43.

[2]) Warming, E, „Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier“. Aftryk af „Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjöbenhavn 1875, No. 20—28. Mit einem franz. Resumé: Observations sur quelques Bactéries, qui se rencontrent sur les côtes du Danemark.

[3]) Jegunow, M., „Platten der roten und der d-Schwefelbakterien“. Zentralbl. f. Bakteriologie usw. 1898. Bd. IV, S. 258.

[4]) Zitiert nach Cohn l. c. S. 164.

Wasser eines Teiches bei Kahla in Thüringen eine rote Farbe annahm, wenn es mit einem Stock aufgewühlt wurde, und Cohn stellte fest, daß die rote Farbe von Clathrocystis roseo-persicina und Monas Okenii hervorgerufen wurde, demselben Organismus, der auch von Ehrenberg nicht weit davon bei Ziegenhain in Thüringen, später bei Berlin und von Eichwald und Weiße bei Petersburg aufgefunden wurde.*)

Engelmann[1]) fand zu Utrecht im Wasser des am physiologischen Laboratorium vorbeifließenden Rheinarms eine rötliche Bakterienform, die durch ihr höchst eigentümliches Verhalten zum Lichte seine volle Aufmerksamkeit fesselte. Es war sicher eine Purpurbakterie.

Eine genaue Schilderung des Vorkommens von farblosen und roten Schwefelbakterien in den Thermalwässern nahe bei Nikko (Japan) verdanken wir Miyoshi[2]). Er fand in Gräben und Tümpeln, die thermale Abwässer empfangen, pfirsichblührote Flecke, die aus verschiedenen Chromatiumarten bestanden.

Einzelne Beobachter haben Purpurbakterien auch gelegentlich im Zimmer beobachtet. Morren[3]) teilt mit, daß das Wasser in einem Glase, in welchem Pteris aquilina zwei Monate lang moderte, infolge des Auftretens der Monas vinosa eine weinrote Farbe annahm. Und Lankester[4]) berichtet, daß er sein Bacterium rubescens in Glasgefäßen mit Flußwasser auftreten sah, die mit Resten von Holzwürmern (caddis worms) am Fenster dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt waren. Ferner entwickelten sich in einem Glasgefäß, welches zwei in Fäulnis geratene Astacus (crayfish) enthielt, längs der ganzen Glaswand Überzüge von roten Bakterien. Außerdem erhielt er von einem seiner Freunde große Mengen seines Bacterium rubescens, das sich im Wasser mit mazerierten Knochen entwickelt hatte.[5])

*) Vgl. Perty, M., Zur Kenntnis kleinster Lebensformen usw., Berlin 1852, S. 174.

[1]) Engelmann, Th. W., Bacterium photometricum. Pflügers Archiv f. d. g. Physiologie. XXX. 1883. S. 95.

[2]) Miyoshi Manabu, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. Journal of the College of Science. Imperial University, Tokyo, Japan. Vol. X. Pt. II 1897 p. 143.

[3]) Morren, Ch., Recherches sur la rubéfaction des eaux. Mém. de l'Acad. de Bruxelles 7. Févr. 1841, p. 70.

[4]) E. Ray Lankester, On a Peach coloured Bacterium — Bacterium rubescens. Quart. Journ. of Microsc. Science. Vol. XIII. New. ser. 1873, p. 408.

[5]) Ray Lankester, Further Observations on a Peach- or Red-coloured Bacterium — Bacterium rubescens. Quart. Journ. of Microsc. Science XVI. New series 1876, p. 27.

Geht aus der vorstehenden Übersicht zwar hervor, daß Purpurbakterien in der Natur gar nicht so selten gefunden werden, so war die Auffindung doch immer eine auf gewisse Örtlichkeiten beschränkte oder eine mehr gelegentliche, eine Methode aber, sich Purpurbakterien zu jeder Zeit mit Sicherheit in großen Mengen im Laboratorium zu verschaffen, fehlte bisher. Die Erfahrung lehrt, daß erst bei bequemer Beschaffung des Untersuchungsmaterials die Aussicht auf ein nach verschiedenen Richtungen erfolgreiches Studium der betreffenden Organismen wächst. Da ich mich aus verschiedenen Gründen für diese in physiologischer Beziehung so wichtige Gruppe von Bakterien lebhaft interessierte und da ich Purpurbakterien von natürlichen Standorten trotz der Zuvorkommenheit meiner Fachgenossen[1]) begreiflicherweise nur zu gewissen Zeiten erhielt, so suchte ich mich von den Standorten in der Natur unabhängig zu machen und stellte darüber Versuche an, ob man denn nicht unter geeigneten Bedingungen Purpurbakterien jederzeit im Laboratorium gewinnen und kultivieren könnte. Das ist mir nun nach verschiedenen orientierenden Versuchen mit sehr einfachen Mitteln geglückt. Man hat dabei sein Augenmerk hauptsächlich darauf zu richten, daß verschiedene organische Substanzen am Lichte bei erschwertem Sauerstoffzutritt faulen. Anfangs, als ich, diesen letzteren Umstand nicht beachtend, mit relativ niederen Kulturgefäßen arbeitete, bekam ich häufig negative Resultate, erst als ich mit schmalen (4—7 cm) und mit 30—50 cm hohen zylindrischen Glasgefäßen, in deren Tiefe der Sauerstoff sehr langsam gelangte, arbeitete, traten die Purpurbakterien je nach der Jahreszeit, d. h. je nach Temperatur und Lichtintensität, bald früher bald später regelmäßig auf.

Beschaffung von Süßwasserarten.

a) Mit Heu. Wurde in ein Glasgefäß von den beschriebenen Dimensionen eine kleine Handvoll Heu gegeben, am Grunde recht zusammengedrückt, so daß es infolge der später auftretenden Gasbildung nicht aufsteigen konnte, das Gefäß dann mit Fluß-(Moldau-)wasser bis hinauf gefüllt, mit einer Glasplatte bedeckt und an ein Südwestfenster, wo die Kulturen stundenlang direktem Sonnenlicht ausgesetzt waren,

[1]) Für eine Sendung mariner Purpurbakterien von der Küste Dänemarks bin ich meinem lieben Freunde, Herrn Prof. W. Johannsen, sehr zu Danke verpflichtet. Zu danken habe ich ferner meinem Schüler Herrrn Dr. Franz Ruttner für reichliches Purpurbakterienmaterial aus dem Lunzer See (Niederösterreich) und Herrn Dr. Werner Magnus für eine Probe aus dem Bassin des Berliner botanischen Gartens.

gestellt, so traten zunächst die verschiedensten Organismen (Bakterien, Infusorien, Flagellaten, grüne Algen usw.) auf; nach 3—8 Wochen oder später färbt sich das Wasser meist zuerst unten, später häufig bis hinauf rot. Die Ursache dieser Färbung können sehr verschiedene Purpurbakterien sein: große und kleine Rhodospirillen, Rhodonostoc, Rhodobacillus und Chromatium. Ungemein häufig treten Rhodospirillum giganteum, Rh. photometricum und ein kleines, sehr flinkes Rhodospirillum auf. Später bilden sich rote Überzüge und Bodensätze, besonders auf der Lichtseite, auf Heu und Glaswand, die der Hauptmasse nach aus den genannten Purpurbakterien bestehen. Neben diesen im Heuinfus fast immer erscheinenden Purpurbakterien erscheint nicht selten ein kleiner, rosaroter, zu Zoogloeamassen vereinigter Coccus. Er ist sehr klein, unbeweglich, in Haufen beisammen von rosa- oder pfirsichblühroter Farbe. Die genannten im Heuinfus so massenhaft auftretenden Purpurbakterien führen, abgesehen von Chromatium, niemals Schwefelkörnchen in ihrem Leibe, selbst wenn man für die Schwefeleinlagerung die günstigsten Bedingungen schuf. Über diese hier und später erwähnten neuen Gattungen und Arten vergleiche Seite 14—28.

b) Mit gekochtem Ei. Stellt man den Versuch genau so an wie früher, nur mit dem Unterschied, daß man anstatt des Heues die Hälfte eines gekochten Eies auf den Boden des Gefäßes bringt, so tritt nach etwa einem Monat oder später Rotfärbung des Wassers ein infolge des Auftretens verschiedener Purpurbakterien. Es stellen sich unter diesen Verhältnissen gewöhnlich Rhodospirillen, Rhodovibrio, Rhodobacillus und ein Rhodococcus ein. Die Bodensätze zeichnen sich oft durch eine besonders intensiv karminrote Farbe aus.

c) Mit Knochen. Ein etwa kinderfaustgroßer Rindsknochen, an dem noch einzelne kleine Fleischteile hängen, wird verwendet. Zuerst bildet sich unten eine vom Blute gefärbte rote Schicht. Nach etwa einem Monat oder später färbt sich die ganze Flüssigkeit intensiv blutrot, später fast schwarzrot. Das Wasser enthält eine ungeheure Menge eines auffallend langen, beweglichen Purpurspirillums, das alle Eigenschaften der Purpurbakterien besitzt, aber niemals Schwefelkörnchen führt.

d) Mit Regenwürmern. Ich legte etwa 5 mäßig große Regenwürmer auf den Boden des Gefäßes. Das Wasser wird alsbald bakteriös, trüb, nach einiger Zeit infolge von Algenbildung grün. Nach etwa $1\frac{1}{2}$ Monaten erscheinen die mazerierten Würmer mit einer prachtvoll purpurkarminroten Schichte, bestehend aus einer kleinen kokkenartigen Purpurbakterie oder anderen Purpurbakterien bedeckt.

e) Mit Schnecken. Zwei tote Schnecken (Limnaeus stagnalis) werden in das Versuchsgefäß gelegt. Das Wasser wird oben mit einer Ölschicht behufs Abhaltung des Sauerstoffs versehen. Im Mai färbte sich das Wasser schon nach 20 Tagen namentlich unten, später bis hinauf schön rot. Die Ursache der Rotfärbung waren große und kleine Purpurspirillen oder Rhodovibrionen. Die Versuche gelingen auch sehr schön in langen Absorptionsröhren, wenn diese mit 2—4 erwachsenen Schnecken beschickt, mit Moldauwasser vollständig gefüllt und dann mit dem verkorkten Ende in eine 20 cm hohe Wasserschichte eingestellt werden, so daß der Luftsauerstoff fast ganz abgehalten wird. Die Röhren werden, sobald die Flüssigkeit „ausgefault" ist, je nach der Jahreszeit in der Zeit von $^1/_2$—6 Monaten im Lichte oft intensiv rot infolge des Auftretens von roten Spirillen und Rhodovibrionen.

f) Mit Pepton. Moldauwasser mit 1 % Pepton. Oben eine Ölschichte. Im Monate Mai färbte sich in einzelnen Gefäßen schon nach 3 Wochen die ganze Flüssigkeit bis hinauf zur Ölschichte schön rot infolge einer ungeheuren Menge von Purpurspirillen.

Es sei erwähnt, daß auch noch andere organische Materialien sich für unsere Zwecke als tauglich erwiesen, so Blutegel, Fische, Frösche, faulende Chara, Früchte von der Wassernuß Trapa natans, faulende Rhizome von verschiedenen Sumpfpflanzen und Pferdemist, mit und ohne Zusatz von Gips.

Beschaffung von marinen Arten.

Um solche Arten zu gewinnen, war es nur nötig, in einem hohen zylindrischen Glase eine Handvoll von vom Meere ausgeworfenem Seegras (Zostera), das ich mir von Triest nach Prag senden ließ, im Meerwasser faulen zu lassen. Wenn die Versuche im Mai angestellt wurden, und mit dem Seegras Tierreste vermischt waren, so konnten oft schon nach 14 Tagen, besonders schön bei Abschluß mit Öl Purpurbakterien in großen Mengen beobachtet werden. Sie treten zunächst in der Tiefe auf, bilden dann später unten auf der Glaswand und dem Seegras Überzüge von prachtvoll pfirsichroter oder violetter Farbe, während die oberen Partien von Algen grün gefärbt erscheinen. Fügt man zu dem Seegras eine tote Krabbe, einen Seeigel oder ein kleines Stück eines Fisches, so ist die Entwicklung der Purpurbakterien noch eine viel üppigere, die Flüssigkeit wird dann bis hinauf zu dem Wasserspiegel intensiv rot, und die Wände des Gefäßes sind nach mehreren Monaten

allseits, besonders auf der Lichtseite, mit dicken Häuten von Purpurbakterien bedeckt. Fast regelmäßig fanden sich vor ein kleiner, von Schwefelkörnchen freier Coccus von pfirsichblühroter Farbe, Chromatien, reichlich mit Schwefelkörnchen versehen, ferner Rhodobacillus, im Herbste auch Rhodothece und Rhodocapsa.

Es sei noch erwähnt, daß das Auftreten der Purpurbakterien im Frühjahr und Sommer rascher eintritt als im Herbst und Winter, weil Wärme und Licht die Entwicklung der Purpurbakterien begünstigen. Während man im Winter wegen der geringen Lichtintensität und der relativ geringen Zimmerwärme 3—4 Monate oder auch noch länger auf das Erscheinen der Purpurbakterien warten muß, oder der Versuch sogar versagt, treten sie in der warmen Sommerzeit oft schon nach 14 Tagen auf, regelmäßig aber erst dann, wenn die organische Substanz der Hauptmasse nach von Fäulnisbakterien und Fäulnisinfusorien und Flagellaten umgesetzt worden ist. Es tritt dann eine Spezies oft dominierend auf, so daß ein aus der Flüssigkeit geschöpfter Tropfen sich wie eine Reinkultur ausnimmt, oder es treten zwei oder mehr Formen gleichzeitig nebeneiander oder hintereinander auf.

Der Abschluß mit Öl (Olivenöl) ist zwar bei tieferen Gefäßen nicht unumgänglich notwendig, allein in vielen Fällen wird doch das Auftreten der roten Bakterien hierdurch sehr begünstigt, ja nicht selten erst ermöglicht. Bei Verwendung von Öl können die geschilderten Versuche sogar mit Erfolg in gewöhnlichen Eprouvetten durchgeführt werden.

Sind die Purpurbakterien einmal in einem Kulturgefäß aufgetreten, so halten sie sich darin, falls man das verdampfende Wasser ersetzt oder die Verdampfung überhaupt verhindert, Monate, ja über ein Jahr lang, und wenn die beweglichen Formen nach längerer Zeit infolge von Nahrungsmangel Bewegung und Vermehrung einstellen, so bleiben sie doch zum Teil am Leben und können durch Hinzufügen von neuen Nährstoffen wieder leicht zur Entwicklung ihrer vollen Lebensenergie gebracht werden.

Die angeführte Methodik zur Beschaffung von Purpurbakterien hat auch das interessante Resultat ergeben, daß es zweierlei Gruppen von Pupurbakterien gibt. 1. solche, die regelmäßig Schwefelkörnchen in ihrem Körper ablagern, genau so wie die farblosen Beggiatoen und andere farblose Schwefelbakterien. Diese Art der Purpurbakterien war bekannt. Und 2. eine Gruppe, die zwar unter denselben Verhältnissen vorkommt wie die erste, sich aber von dieser dadurch wesentlich unterscheidet daß ihr die Fähigkeit, Schwefelkörnchen in ihrem Körper einzulagern, voll-

ständig abgeht. Ich betone dies, weil diese Tatsache nicht aufgefallen ist. Engelmann[1]) bezeichnet sein Bacterium photometricum als meist ganz schwefelfrei und Spirillum rubrum Esmarch als anscheinend immer schwefelfrei. Winogradsky,[2]) dem wir bekanntlich sehr eingehende Untersuchungen über Purpurbakterien verdanken, spricht sich über ihre Fähigkeit, Schwefel einzulagern, folgendermaßen aus: „Während die einen beim Verweilen in H_2S-reichen Medien sich rasch mit Schwefel erfüllen, lagern die anderen nur ganz spärliche Mengen von Körnchen ab. Zwischen diesen Extremen kommen alle Übergänge vor." Daraus würde also hervorgehen, daß alle Purpurbakterien Schwefel einlagern können, einzelne allerdings nur geringe Mengen. Meine Untersuchungen lehren aber zahlreiche Arten kennen, die überhaupt ganz außerstande sind, intrazellular Schwefel sichtbar abzuscheiden.

Überblicken wir die vorstehenden Versuche, so ergibt sich, daß man nunmehr mit Leichtigkeit imstande ist, zu jeder, namentlich aber in der wärmeren Jahreszeit, im Laboratorium verschiedene Arten von Purpurbakterien mit derselben Sicherheit zu gewinnen, mit der man sich beispielsweise den Heubazillus, Sarcina oder Eisenbakterien verschaffen kann; ferner daß Purpurbakterien verschiedener Art an der Meeresküste, im Flußwasser, in Teichen und Tümpeln in einzelnen Individuen allgemein verbreitet sein müssen, daß sie sich aber nur unter für sie geeigneten Verhältnissen, wozu hauptsächlich organische Substanzen, Licht und mangelhafter Zutritt von Sauerstoff gehören, in Massen entwickeln. Und endlich, daß es zwei Gruppen von Purpurbakterien gibt: solche, die intrazellular Schwefel in Form von Körnchen abscheiden können, und solche, denen diese Fähigkeit vollständig fehlt.

[1]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Lichte. Botan. Ztg. 1888, S. 667.

[2]) Winogradsky, S., Beiträge l. c. S. 42.

II.

Die Reinkultur von Purpurbakterien. Beschreibung neuer Gattungen und Arten. Systematische Übersicht.

1. Die Reinkultur von Purpurbakterien.

Für die exakte Lösung gewisser Fragen sind Reinkulturen unbedingt erforderlich. Wäre es heute z. B. möglich, Eisenbakterien in reiner Form zu züchten, so könnte manche noch strittige Frage einer sichern Lösung entgegengebracht werden. Dasselbe gilt auch von den Schwefelbakterien. Leider ist es, obwohl man sich darum bemüht hat, bisher noch niemandem gelungen, Schwefelbakterien, die in ihrem Inneren Schwefel in sichtbarer Form abscheiden, rein zu kultivieren, weder die farblosen noch die roten. Winogradsky[1]) wies schon auf die schier unüberwindlichen Schwierigkeiten hin: „Sowohl an den natürlichen Standorten als in künstlichen Massenkulturen trifft man meistens ein Gemenge von verschiedenen Formen an. Eine sichere Methode, dieselben zu isolieren, gibt es nicht. Alle Kunstgriffe, welche sonst in der Bakteriologie sehr gute Dienste leisten, lassen hier vollkommen im Stiche. Die Gelatinemethode ist unanwendbar, weil diese Bakterien in Gelatine rasch absterben, die Verdünnungsmethode ebenfalls, weil sie unter anderem sich nicht gleichmäßig im Wasser verteilen, sondern in schleimigen Knäueln oder Klumpen zusammenhängen.“ Auch Nathanson[2]) hatte sich bemüht, Beggiatoa rein zu züchten, allein seine Versuche mißglückten.

Meines Wissens ist nur eine (schwefelkörnchenfreie) Purpurbakterie rein kultiviert worden, das Spirillum rubrum Esmarch.[3]) Im Sommer

[1]) Winogradsky, S., Beiträge usw. l. c., S. 13.

[2]) Nathansohn, A., Über eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. Mitteilungen aus der zoologischen Station zu Neapel. 15. Bd. 4. Heft 1902, S 655.

[3]) Esmarch, E., Über die Reinkultur eines Spirillum. Zentralblatt für Bakteriologie usw. 1887, I. Bd., S. 225.

1886 wurde eine an Mäuseseptieaemie zugrunde gegangene Maus, um Fäulnisbakterien zu gewinnen, in ein großes Becherglas mit gewöhnlichem Leitungswasser gelegt. Als Esmarch drei Monate später das Glas wieder revidierte, war das Wasser vollkommen verdunstet und unten lagen die Überreste der Maus als eine trockene, schwarzbraune Masse. Aus dieser isolierte der genannte Forscher mittelst Gelatineröhrchen ein Spirillum, das er wegen der roten Farbe der Kolonien Spirillum rubrum nannte. Damit war es auch zum ersten Male geglückt, ein Spirillum rein zu züchten. Esmarch hatte an seinem Spirillum auch schon eine sehr beachtenswerte Eigenschaft kennen gelernt. Er beobachtete, daß das neue Spirillum im Impfstich im Gegensatz zu anderen bekannten Farbstoffbakterien oben in Berührung mit atmosphärischer Luft keine Farbe zeigte, während die tiefer liegenden Kolonien eine rote Farbe aufwiesen. Esmarch wußte noch nicht, daß sein rotes Spirillum zu den Purpurbakterien gehört, und aus der Literatur konnte ich überhaupt nicht ersehen, ob sich jemand überzeugt hat, daß die rote Farbe von Bakteriopurpurin herrührt. An einer aus dem Králschen Laboratorium herrührenden Reinkultur des Esmarchschen Spirillum habe ich mir den Beweis verschafft, daß dieses Spirillum tatsächlich zu den Purpurbakterien gehört. Eine Abbildung und die Beschreibung des Spirillum rubrum Esmarch findet sich im Atlas von Lehmann-Neumann.[1])

Winogradsky hat seine morphologisch-entwicklungsgeschichtlichen Studien nicht an Reinkulturen sondern an Gemischen verschiedener Organismen unter dem Deckglas gemacht, da ihm eine Reinzüchtung nicht gelingen wollte. Er fand die Purpurbakterien stets vermischt mit chlorophyll- oder richtiger phykochromhaltigen Organismen und einer Reihe anderer, auf die er leider die Bezeichnung „grüne Bakterien" (S. 44) anwendet, obwohl es sich meiner Meinung nach um sehr kleine kugel- und stabförmige Algen handelt. Die in solchen Gemischen vorhandenen roten Bakterien beobachtete der russische Forscher in Objektträgerkulturen in Ermangelung von Reinkulturen und verfolgte ihre Entwicklung, Morphologie usw., was sich für die Lösung gewisser Fragen als ausreichend erwies. Für die Beantwortung gewisser physiologischer Fragen und gerade der wichtigsten reicht die Winogradskysche Methode natürlich nicht aus, hier sind Reinkulturen ein notwendiges Erfordernis. Wenn es gelänge, verschiedene Arten rein zu kultivieren, so wäre damit ein großer Fortschritt angebahnt, und daher war ich in

[1]) Lehmann-Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie usw. 3. Aufl. 1904. S. 425, Tafel 55.

den letzten drei Jahren bemüht, dieses Ziel zu erreichen. Die prachtvollen Rohkulturen von Purpurbakterien, die ich mir in der bereits geschilderten Weise so bequem und leicht im Laboratorium verschaffte, und ferner Esmarchs Erfahrung mit Spirillum rubrum ermutigten mich, die anfangs mißglückten Versuche nicht gleich aufzugeben. Die meisten Purpurbakterien wachsen nicht in ausgegossenen Platten, weil der leicht zugängliche Sauerstoff ihre Entwicklung hemmt oder ganz verhindert, ferner ist ihr Wachstum gewöhnlich relativ sehr langsam, weshalb die Kolonien in deutlicher Form erst nach längerer Zeit erscheinen, und außerdem tritt bei manchen, namentlich wenn sie noch relativ viel Sauerstoff empfangen, die rote Farbe erst später auf. Erst als ich alle diese Umstände bei meinen Kulturversuchen gehörig in Betracht zog, hatten meine Versuche den gewünschten Erfolg. Es sei mir der Kürze halber erlassen, meine ersten orientierenden Versuche zu schildern. Für meine Zwecke wird es genügen, wenn ich gleich angebe, wie es gelingt, Purpurbakterien verschiedener Art rein zu züchten. Als Nährsubstrat leistete mir anfangs die besten Dienste ein Agar von folgender Zusammensetzung:

1000 g Wasser
0,5 g $MgSO_4$
0,5 g K_2HPO_4
Spur $FeSO_4$
10 g Pepton
18 g Agar.

Später, als ich mich über die Ernährungsbedürfnisse der Süßwasserpurpurbakterien mehr orientiert und gesehen hatte, daß manche Purpurbakterien mit Pepton allein nicht oder nicht gut gedeihen, wohl aber in einem Gemisch, bestehend aus Pepton und Dextrin, Inulin oder Glyzerin, setzte ich mit Vorteil der angegebenen Nährlösung noch einen dieser Körper bei. Kennt man die Ernährungsbedürfnisse einer Purpurbakterie noch nicht, so wird es gut sein, von vorneherein gleich die beiden organischen Komponenten dem Substrate einzufügen.

Anstatt des destillierten Wassers und der Mineralsalze verwendete ich mit gutem Erfolge auch gewöhnliches Fluß-(Moldau)wasser. Das Nährsubstrat hatte dann zumeist folgende Zusammensetzung:

1000 g Moldauwasser
18 g Agar (oder 100 g Gelatine)
5 g Pepton
5 g Dextrin oder Glyzerin.

In dieser Agarlösung gedeihen viele Purpurbakterien des süßen Wassers sehr gut. Mutatis mutandis gilt dasselbe auch für die Meeresbakterien, nur mußte anstatt des Moldauwassers Meerwasser — ich nahm solches aus dem Hafen von Triest — verwendet oder bei Benutzung von destilliertem Wasser 3 % Kochsalz und die nötigen Nährsalze zugesetzt werden. Diese Mischungen wurden in gewöhnliche Eprouvetten ziemlich hoch eingefüllt und mit ihnen gelang mir die Reinkultur verschiedener Purpurbakterien und zwar in folgender Weise.

Trat in einem Kulturgefäß nach Durchführung einer der im vorigen Kapitel geschilderten Methoden eine Purpurbakterie in so großen Mengen auf, daß die Flüssigkeit eine rote Farbe aufwies, so wurde ein kleiner Tropfen von der Rohkultur in das Kulturglas gebracht und durch Überimpfung in mehrere Eprouvetten das Ausgangsmaterial entsprechend verdünnt. Diese Schüttelkulturen wurden dann an einem gut beleuchteten Südwestfenster, vor Staub möglichst geschützt, dem Sonnenlichte ausgesetzt. Nach einiger Zeit entwickeln sich die roten Kolonien der Purpurbakterien je nach der Jahreszeit bald früher, bald später: im Frühjahr und Sommer infolge des günstigen Lichtes nach einigen Tagen oder Wochen, im Winter dauert es längere Zeit, ja manche Purpurbakterien gedeihen überhaupt nur in sehr günstigem Lichte und kommen daher gewöhnlich gar nicht im Winter auf, weil ihnen zu dieser Zeit die ihnen notwendige Lichtintensität fehlt.

Je nach dem Sauerstoffbedürfnis der Arten erscheinen die Kolonien entweder unten oder mehr in der Mitte der Eprouvette oder knapp unter dem Meniskus des Nährmediums. Nun galt es, sobald die Kolonien größer geworden waren, die roten von den farblosen zu trennen, bzw. von einem roten allein abzuimpfen. Dies gelang mir dadurch, daß ich ein Agarröhrchen, in dem nur sehr wenige voneinander weit entfernte Kolonien sich entwickelt hatten, an dem unteren Ende zerschlug und den Inhalt des Röhrchens in eine sterilisierte Petrischale herausschüttelte. An dem wurstförmigen Inhalte wurde dann mit einem sterilisierten Skalpell unter Zuhilfenahme einer Nadel eine rote Kolonie sorgfältig frei gelegt und davon abgeimpft. Bei öfterer Wiederholung des Versuchs gelangte ich auf diese Weise bei einigen Arten zu tadellosen Reinkulturen.

Bevor ich zur Beschreibung der aufgefundenen neuen Gattungen und Arten übergehe, möchte ich einer einfachen Methode Erwähnung tun, die gleichfalls zur Durchführung von Reinkulturen und zur Auffindung zahlreicher neuer Purpurbakterien herangezogen werden kann, ich meine die Kultur unter Deckglas bei Luftabschluß. Man verfährt dabei in folgender Weise:

Man impft mit einer Öse einer Purpurbakterien-Rohkultur in ein Pepton-Dextrin-Agarröhrchen, verdünnt durch Überimpfen und gießt aus einem Röhrchen, welches vermutlich nicht allzuviele Bakterien im cm^3 enthält, 1—3 Tropfen auf einen großen sterilen Objektträger, bedeckt rasch mit einem sterilen großen Deckglas (3 × 4 cm) und verschließt mit Terpentinharz[1]), wodurch ein sehr bequemer Luftabschluß erzielt wird. Die Kulturen werden dann im starken diffusen Lichte staubfrei aufgestellt. Je nach der herrschenden Temperatur und der Intensität des Lichtes treten nach 1—2 oder mehreren Wochen Kolonien auf, von denen sich viele schon durch ihre rote Farbe als Purpurbakterien zu erkennen geben. Ungemein häufig begegnete ich hierbei z. B. den Kolonien von Rhodonostoc capsulatum, nicht selten denen von Rhodospirillum photometricum — siehe Tafel I, Fig. 5 — und anderen. — Es ist bei Anwendung dieser Methode ungemein bequem, das Wachstum der Kolonien Schritt für Schritt zu verfolgen, die Eigentümlichkeiten der Kolonien zu studieren und davon Reinkulturen zu gewinnen, falls unter dem Deckglas nur eine oder nur einige wenige von einander genügend entfernte Kolonien aufgetreten sind. Von solchen Kolonien kann nach Abheben des Deckglases abgeimpft werden. Eine Verunreinigung der Kolonie ist dabei allerdings nicht ausgeschlossen, aber bei mehrmaliger Wiederholung des Versuchs wächst die Wahrscheinlichkeit für sein Gelingen.

Durch derartige Kulturen habe ich mich überzeugt, daß es noch manche unbeschriebene Arten von Rhodobakterien gibt und daß dem Systematiker hier eine lohnende Aufgabe winkt.

Meine verschlossenen Deckglaskulturen liefern auch in einfacher Weise den Beweis, daß viele Purpurbakterien ohne freien Sauerstoff, also anaërob zu gedeihen vermögen. Ein wenig Sauerstoff ist allerdings am Anfang des Versuchs in dem Versuchstropfen vorhanden, allein

---

[1]) Dickflüssiger käuflicher venetianischer Terpentin wird in einer Porzellanschale auf einem Sandbad etwa 2—3 Tage eingedickt, bis das kalt gewordene Harz bei gewöhnlicher Temperatur dem Finger keinen Eindruck mehr gestattet. Mit einem heißen Draht, der zu einem Dreieck geformt in einem Holzgriff steckt, wird das Harz in noch flüssigem Zustande sukzessive um die 4 Kanten des Deckglases aufgetragen, wonach es sofort erstarrt und einen ausgezeichneten luftdichten Verschluß bildet. Ich verschließe die meisten meiner mikroskopischen Präparate mit diesem Harz und ich kann diese ausgezeichnete und ungemein vorteilhafte Verschlußmethode, die ich im Wiener pflanzenphysiologischen Institute als Assistent eingeführt habe und die auf meine Initiative von seiten der Botaniker in ganz Österreich seit den achtziger Jahren praktiziert wird, auf das wärmste empfehlen.

diese Spur wird alsbald von den sich entwickelnden Kolonien verbraucht und ein Zuströmen neuen Sauerstoffes findet durch das starre Terpentinharz hindurch nicht statt. Ich überzeugte mich davon unter anderem durch folgenden Versuch.

Ich verschloß eine frische, stark leuchtende Bakterienmasse in Bouillon (Bacterium phosphoreum (Cohn) Molisch in der angegebenen Weise mit Terpentinharz. Die Bakterien hören nach einiger Zeit, sobald sie den Sauerstoff veratmet haben, auf, zu leuchten. Würde Sauerstoff durch das Harz hindurchdiffundieren, so würden sie, da sie schon mit ganz minimalen Mengen Sauerstoffes leuchten[1]), auch noch weiterhin Licht entwickeln. Das ist aber nicht der Fall. Zerschlägt man nach einigen Tagen das Deckglas oder macht in das Harz eine kleine Lücke bis zur Einbettungsflüssigkeit, so leuchten sie, da nun Sauerstoff einströmt, sofort wieder auf.

2. Beschreibung neuer Gattungen und Arten.

Rhodobacillus palustris Molisch.

(Tafel I. Fig. 1 u. 2.)

Mikroskopisches Aussehen: Auf Agar oder Gelatine Kurzstäbchen von 1,5—2,5 μ Länge und etwa 0,5 μ Breite, an beiden Enden abgerundet, die sich teilenden Individuen bald sich trennend, seltener 2—4 Individuen zu einem geraden oder gebogenen kurzen Faden vereinigt. Im Moldauwasser-Pepton-Dextrin sind die einzelnen Zellen viel länger, 3—11 μ. (Siehe Tafel I, Fig. 1 u. 2.)

Eigenbewegung: Auf festen Nährböden ist fast nie eine Eigenbewegung zu sehen, hingegen nicht selten in flüssigen, z. B. in jungen Kulturen von Moldauwasser-Pepton-Dextrin.

Farbstoff: Einzelindividuen erscheinen farblos, in Haufen beisammen rötlich, Massenkulturen tief karminrot. Die Bakterie enthält Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin.[2])

Färbbarkeit: Färbt sich mit wässerigem Anilinblau. Fuchsin nicht gut, man muß den Farbstoff ziemlich lang einwirken lassen, um halbwegs gute Präparate zu erzielen.

Wachstum: Im allgemeinen langsam. Unter 15° sehr langsam, rascher bei 25—40°.

Sauerstoffbedürfnis. Ist eine von den wenigen Purpurbakterien, die auch die gewöhnliche Sauerstoffspannung verträgt. In Gelatine-

[1]) Molisch, H., Leuchtende Pflanzen. Jena 1904. S. 102 usw.

[2]) Über diesen neuen grünen Farbstoff der Purpurbakterien vgl. den letzten Abschnitt.

schüttelkulturen findet die beste Entwicklung etwa 3 mm unter dem Meniskus statt. Daraus ist ersichtlich, daß die Bakterie eine etwas schwächere Sauerstoffspannung als die gewöhnliche liebt.

Lichtbedürfnis: Siehe S. 68—69.

Agarplatte, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur:

Natürliche Größe: Die Kolonien wachsen langsam, sie erreichen nach 1—2 Monaten eine Größe von 1—1½ mm im Durchmesser. Die tiefliegenden sind tiefrot, rund oder wetzsteinartig. Die aufliegenden saftig glänzend, anfangs weißlich, später werden sie in der Mitte rot. Mit freiem Auge betrachtet, erscheinen sie dann weißlich umsäumt.

Bei 50facher Vergrößerung: Die aufliegenden Kolonien erscheinen braunrot, meist rund, glattrandig oder am Rande unscharf punktiert. Ihre Struktur ist homogen oder krümelig. Die tiefliegenden sind stärker gefärbt, rund, wetzsteinartig oder unregelmäßig mit homogener Struktur.

Gelatinestrich: In den ersten Wochen weißlich, später lachsrot. Glattwandig, feuchtglänzend. Wachstum sehr langsam, der Strich verbreitert sich nur wenig.

Gelatinestich: Anfangs fast farblos, dann blaßrötlich, später von oben bis unten tief weinrot. Keine Auflage. Sonst nicht charakteristisch.

Gelatine-Schüttelkultur: 3—5 mm unter dem Meniskus bildet sich nach etwa 10 Tagen eine ½ cm hohe Zone von dichten roten Kolonien. Tiefer entstehen nur sehr wenig Kolonien.

Alkalische Kartoffelkultur: Hier entwickelt die Bakterie, obwohl der atmosphärischen Luft ausgesetzt, eine intensiv rote Farbe. Der Strich breitet sich nach und nach aus, er ist saftig glänzend.

Bouillonkultur: Nach einigen Tagen trübe, nach 10 Tagen ziemlich reichlicher blaßroter Bodensatz.

Moldauwasser-Pepton-Dextrin: Im Lichte tritt bei gewöhnlicher (Sommer-)Zimmertemperatur nach etwa 10 Tagen an der Stelle des Bodens, wo das Gefäß die intensivste Beleuchtung aufweist, ein roter Bodensatz auf. Nach etwa 1—2 Monaten ist der ganze Boden tiefrot. In entsprechenden Kulturgefäßen, die dem Lichte entzogen sind, ist die Entwicklung viel schwächer, Rotfärbung ist erst nach langer Zeit nur in geringem Grade zu bemerken.

Chemische Leistungen: Verflüssigt Gelatine nicht.[1])

Vorkommen: In Sümpfen und Flußwässern sehr häufig. Von mir aus Sumpfwasser, in dem Trapa-Nüsse faulten, herausgezüchtet.

[1]) Ich habe bisher bei keiner Purpurbakterie die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, beobachtet.

Rhodobacterium capsulatum Molisch.

(Tafel I, Fig. 3 u. 4.)

Mikroskopisches Aussehen: In flüssiger Nährlösung (Meerwasser-Pepton-Dextrin) Kurzstäbchen, nur wenig länger als breit, daher fast kokkenartig, 0,9—1,8 μ lang. In oder auf festen Substraten, z. B. Gelatine, etwas länger 0,9—2,7 μ. Bei Behandlung der lebenden Bakterien mit flüssiger Tusche (Perltusche von G. Wagner) erkennt man, daß die Zellen einen nicht sehr dicken Schleimhof besitzen, dessen größter Durchmesser etwa zwischen 3,5—5,5 μ schwankt. Wegen dieses Schleimhofes nannte ich die Bakterie capsulatum. Der Schleimhof ist besonders auf festen Substraten, z. B. auf Kartoffelscheiben, schön entwickelt.

Eigenbewegung wurde nicht beobachtet.

Färbbarkeit: Mäßig leicht färbbar mit Anilinblau, Karbolfuchsin usw.

Farbstoff: Einzelne Zellen erscheinen farblos. Erst in Haufen tritt die rote Farbe hervor. Massenkulturen sehen tief karminrot aus. Besonders viel Farbstoff entwickeln Kartoffelkulturen. An Farbstoffen lassen sich Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin nachweisen. Der Farbstoff entwickelt sich sowohl im Lichte als im Finstern, im Lichte rascher und reichlicher.

Wachstum: Nicht sehr rasch, aber doch energischer als bei der vorigen Art. Unter 15° langsam, gut bei 25—37°.

Lichtbedürfnis: Siehe S. 68—69.

Sauerstoffbedürfnis: Verträgt gewöhnliche Sauerspannung, aber auch geringere.

Agarplatte: a) Natürliche Größe: Bei 25° erscheinen nach etwa 5 Tagen die Kolonien als kleine, rote, kreisrunde, feuchtglänzende Pünktchen. Die oberflächlichen sind größer, im Maximum 1—2 mm, blaßrot, die tieferen sind kleiner und tiefrot.

b) Bei 70facher Vergrößerung: Die oberen Kolonien kreisrund, glattrandig, die tieferen rundlich, häufig wetzsteinartig. Die Kolonien haben selbst nach längerer Zeit nicht die Tendenz, sich stark zu vergrößern.

Agarstich: Fadenförmig, nach unten sich verschmälernd. Anfangs blaßrötlich, dann immer intensiver rot werdend. Die Intensität der Farbe nimmt von oben nach unten ab. Auflage: Keine oder fast nur auf die Stichöffnung beschränkt.

Gelatinestich: Stich und Auflage wie bei Agar.

Gelatinestrich: Nach 8 Tagen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ein blaßroter, saftig glänzender, schmaler Strich.

Alkalische Salz-Kartoffelkultur: Bildet sowohl im Lichte wie im Dunkeln krapp- oder tiefkarminrote Striche. Die Farbstoffbildung ist trotz des Luftzutrittes sehr intensiv.

Meerwasser-Pepton-Dextrin-Kultur: Schon nach wenigen Tagen bildet sich bei 25° eine rötliche Trübung. Sie wird immer intensiver und führt schließlich zu einem tiefroten Bodensatz. Im Lichte ist die Rötung intensiver und früher zu erkennen.

Chemische Leistungen: Verflüssigt Gelatine nicht.

Vorkommen: Kam spontan zur Entwicklung im Triester Meerwasser, in welchem Seegras (Zostera) faulte. Sehr häufig.

Im Anschlusse an die vorhergehenden rein gezüchteten Rhodobakterien seien noch einige andere Purpurbakterien erwähnt, die rein zu kultivieren mir zwar nicht gelang, die aber so charakteristisch sind, daß sie auf Grund der Merkmale, die die Zelle bietet, leicht beschrieben und erklärt werden können. Es sind dies vor allem jene 2 Gattungen, die ich Rhodocapsa und Rhodothece genannt und ausführlich an einem anderen Orte[1]) geschildert habe. Hier will ich nur das Wichtigste darüber hervorheben.

Rhodocapsa suspensa Molisch.

(Tafel II, Fig. 11. u. 12.)

Diese Bakterie trat sehr oft in meinen Kulturgefäßen auf, die verwesendes Seegras (Zostera) und Triester Meerwasser enthielten und monatelang ziemlich starkem Sonnenlicht ausgesetzt waren. Namentlich im Herbst und Winter erschien, nachdem das Wasser ziemlich „ausgefault" war, die Bakterie in so ungeheurer Menge, daß die ganze Flüssigkeit von unten bis oben rosenrot oder pfirsichblührot gefärbt war, ja oben sammelte sich die Bakterie — einer Wasserblüte gleich — in dickerer Schichte an. Einmal aufgetreten, hielt sich die Bakterie dann viele Monate lang.

Mikroskopisches Aussehen. Die Figuren 11 und 12 auf Tafel II geben darüber den besten Aufschluß. Sie lehren, daß die Bakterie aus einer stab- oder wurstförmigen, an beiden Enden abgerundeten Zelle besteht, die in der Breite sehr wenig, in der Länge aber sehr stark variiert. Von derben Kurzstäbchen bis zu ansehnlichen, ge-

[1]) Molisch, H., Zwei neue Purpurbakterien mit Schwebekörperchen. Botan. Zeitung 1906, S. 223.

wöhnlich mehr oder minder verbogenen Fäden finden sich alle Übergänge vor. Die Längen schwanken zwischen 3,5—180 μ, die Breiten zwischen 1,8—3,5 μ. Die häufigsten Längen variieren zwischen 10—20 μ.

Jede Zelle liegt in einer farblosen, völlig homogenen Schleimkapsel von ansehnlicher Dicke. Der Breitendurchmesser der Zelle samt Kapsel schwankt zwischen 3,6—18 μ. Es gehört demnach Rhodocapsa zu den großen, ja wenn man die Kapsel mit in Betracht zieht, zu den größten bisher bekannt gewordenen Purpurbakterien.

Selbst die sehr langen, fadenförmigen Individuen bestehen in der Regel nur aus einer Zelle. Nur bei Teilungsstadien — die Teilung vollzieht sich immer nach einer Richtung des Raumes — sieht man in einer Kapsel 2, seltener mehr (3—5) Zellen. Die völlig intakten, im Meerwasser liegenden Zellen zeigen unter gewissen Verhältnissen etwas sehr Auffallendes und bei Bakterien bisher noch nicht Beobachtetes: eigentümliche, stark lichtbrechende Körperchen von unregelmäßiger Form und rötlicher Farbe, die den Plasmaleib wie gekammert und bizarr zerklüftet erscheinen lassen. Es sind das jene Gebilde, die man bisher nur bei Phycochromaceen, hauptsächlich bei den wasserblütebildenden, aufgefunden hat, und die ich als Schwebekörperchen oder Airosomen[1]) bezeichnet habe, weil sie das Schweben der Phycochromaceen[2]) und auch unserer Bakterie fördern.

Neben den Airosomen können in den Rhodocapsazellen auch Schwefelkörnchen auftreten, ja wenn man ihnen Schwefelwasserstoff zuführt, so beladen sie sich dermaßen mit Schwefel, daß die Airosomen hierdurch gedeckt und ganz undeutlich werden.

Die Rhodocapsa hat die Eigentümlichkeit, sich im Wasser monatelang schwebend zu erhalten und zeitweise sich oben an der Wasseroberfläche zu einer Art Wasserblüte anzusammeln. Ferner ist von Interesse, daß mit dem Verschwinden der Airosomen, das in sehr verschiedener Weise, z. B. durch Druck hervorgerufen werden kann, auch die Schwebefähigkeit verloren geht. Indem ich diesbezüglich auf meine ausführliche Mitteilung[3]) verweise, fahre ich in der Beschreibung der Bakterie weiter fort.

F ä r b b a r k e i t. Wenn man dafür sorgt, daß die Salze des Meerwassers entfernt werden, so gelingt es leicht, mit den gewöhnlichen Farbstoffen (Fuchsin, Gentianaviolett, Anilinblau usw.) zu färben. Hierbei

---

[1]) *αἴρω* ich steige, hebe und *σῶμα* der Körper.

[2]) M o l i s c h, H., Die sogenannten Gasvacuolen und das Schweben gewisser Phycochromaceen. Botan. Zeitg. 1903, S. 47.

[3]) M o l i s c h, H., Zwei neue Purpurbakterien usw. l. c.

nimmt aber die Schleimkapsel auch nicht eine Spur des Farbstoffs auf, man kann sie jedoch wunderschön sichtbar machen, wenn man vom Deckglasrande Tuscheflüssigkeit zufließen läßt. Die vorher völlig unsichtbare Kapsel tritt dann wie eine Sonne in Erscheinung. Fig. 12 auf Tafel II.

Farbstoffe. Die Bakterien erscheinen, wenn sie in der Eprouvette in Masse schweben, hellrosarot. Unterm Mikroskop ist nach Entfernung der Schwebekörperchen eine sehr schwache, aber selbst bei starker Vergrößerung noch wahrnehmbare rötliche Färbung zu sehen, besonders wenn man die Zelle in der Richtung der Längsachse betrachtet. Von Farbstoffen sind vorhanden: Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin.

Eigenbewegung. Die von der Kapsel umhüllte Bakterie zeigt keine Bewegung. In einem Gefäße aber, wo im Winter 1905/06 Rhodocapsa in ungeheurer Menge auftrat, fanden sich neben der typischen Kapselform auch sehr zahlreiche Individuen, die der Rhodocapsa in allen Stücken glichen, aber keine Kapsel besaßen und sich lebhaft bewegten. Sie schwimmen mäßig rasch, stets um ihre Längsachse rollend, dahin, längere und dickere Zellen oder fädige Kolonien pendeln mit ihrem Vorder- und Hinterende wackelnd daher. Häufig haftet ein Stäbchen mit einem Ende am Deckglas und vollführt mit dem anderen Ende eine kreisende Bewegung. Obwohl es mir bis jetzt nicht gelang, den Übergang der ruhenden Form in die bewegliche direkt zu beobachten, so erscheint es doch sehr wahrscheinlich, daß die beiden Formen zusammengehören. Es wären dann, ähnlich wie dies Winogradsky bei seiner Thiothece gelatinosa beobachtet hat, zweierlei Stadien zu unterscheiden, ein ruhendes mit der Schleimkapsel und ein bewegliches schwärmendes ohne Schleimkapsel. Beide können Schwebekörperchen und Schwefel, auch beides zugleich enthalten. Sporenbildung wurde niemals beobachtet.

Rhodothece pendens Molisch[1]).

(Tafel II, Fig. 13 u. 14.)

Ein Glasgefäß mit abgestorbenen Polyides-Thallomen und Helgoländer Meerwasser blieb, dem Sonnenlichte ausgesetzt, über den Sommer stehen. Im Herbste war die ganze Flüssigkeit bis hinauf trüb und rosarot gefärbt, etwa wie rosarot gefärbte Schwefelmilch. Die Ursache war eine neue Purpurbakterie, die Rhodothece pendens.

---

[1]) Von ῥόδον die Rose, wegen des roten Farbstoffs der Zelle, und von θήκη, das Behältnis, wegen der die Zelle umhüllenden Schleimhülle. Der Speziesname pendens = schwebend deutet auf die Schwebefähigkeit.

Mikroskopisches Bild. Bei Betrachtung der Bakterie in Tuscheflüssigkeit fällt sofort auf, daß jede Bakterie von einer kugeligen oder ellipsoidischen farblosen Gallerthülle umgeben ist. Fig. 14, Taf. II. In den Zellen stechen die Schwefelkörnchen und die rötlichen Airosomen durch ihre Lichtbrechung so stark hervor, daß man den Umriß der Zelle kaum zu unterscheiden vermag. Entfernt man aber die beiden genannten Einschlüsse etwa durch längeres Einwirken von Alkohol und färbt dann, so gibt sich die Bakterie als ein Coccus, gewöhnlich als ein Diplococcus — Figur 13, Tafel II — zu erkennen. Neben diesen Diplokokken, die für das mikroskopische Bild der Bakterie ungemein charakteristisch sind, finden sich auch ganz kurze Ketten oder Kolonien von 3—5 Zellen. Die Einzel- und Doppelzellen, sowie die Kolonien sind stets von einer Schleimkapsel umgeben, die sich aber im Gegensatz zur Zelle selbst. bei Anwendung gewöhnlicher Methoden, nicht färbt.

Die Zelle ohne Scheide schwankt in ihrem größten Durchmesser zwischen 1,8—2,3 μ (gemessen in Kanadabalsam), der Durchmesser der Gallerthülle variiert bei Einzelzellen zwischen 3—14 μ, bei Kolonien bis 20 μ (in Tuscheflüssigkeit gemessen).

Mit Zeiß $^1/_{12}$ Immersion betrachtet, läßt die Zelle in der Regel 1—2 Schwefelkörnchen und daneben noch 1—2 rot erscheinende Airosomen erkennen.

Auch diese Bakterie erhält sich monatelang im Meerwasser schwebend, auch hier bedingen meiner Ansicht nach hauptsächlich die Airosomen das Schweben, denn mit der Beseitigung der Airosomen hört auch die Schwebefähigkeit auf und die Bakterien sinken zu Boden.

Farbstoff. Von einer Farbe ist an den einzelnen Zellen, abgesehen von den rötlich erscheinenden Airosomen nichts zu sehen, sie wird erst bemerkbar, wenn die Zellen in Häufchen beisammen liegen. Die Rosafarbe der Massenkulturen ist bedingt durch Bakteriopurpurin, neben diesem findet sich noch Bakteriochlorin vor.

Bewegung. Rhodothece zeigte mir, obwohl ich die Bakterie bereits 2 Jahre beobachtete, niemals eine aktive Bewegung, doch wäre es nicht unmöglich, daß sich die Zellen, ähnlich wie bei Rhodocapsa, zeitweise aus der Schleimhülle befreien und dann bewegen können.

Rhodococcus capsulatus Molisch.

(Tafel II, Fig. 15.)

Mikroskopisches Aussehen: Kokken von durchschnittlich 1,5—1,8 μ. Behandelt man mit flüssiger Tusche, so zeigt sich jede

Zelle von einem deutlichen Schleimhof umgeben — siehe Fig. 15, Tafel II. Der Durchmesser der Zelle mit der Schleimkapsel beträgt im Durchschnitt 3—3,6 μ. Die Messungen beziehen sich durchweg auf die lebenden Zellen.

Eigenbewegung: Fehlt.

Färbbarkeit: Mäßig färbbar mit wässerigem Fuchsin, Methylenblau usw. Der Schleimhof färbt sich mit den genannten Farbstoffen direkt nicht.

Farbstoff: Die einzelnen Zellen erscheinen farblos, Haufen davon rot. Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin lassen sich nachweisen.

Vorkommen: Trat in ungeheurer Menge in einem 6 Monate lang belichteten Gefäß mit Heu und Moldauwasser auf, dem pro Liter 10 Tropfen einer konzentrierten Schwefelammoniumlösung zugesetzt worden waren. Die Wände des Glasgefäßes und der Bodensatz waren infolge der massenhaften Entwicklung der Bakterie karminrot. An den Wänden bildet unser Rhodococcus nach und nach dünne Häute.

Rhodococcus minor Molisch.

Im Moldauwasser mit faulendem Heu trat sehr häufig eine kleine kugelige Rhodobakterie in so ungeheurer Menge auf, daß sie die Flüssigkeit und die Glaswände deutlich rot färbte. Dieser Coccus, dessen Zellen kleiner sind als die der vorigen Art, hat im lebenden Zustande einen Durchmesser von etwa 0,8—1,2 μ und besitzt keine Schleimkapsel. Bezüglich seiner Farbstoffe und seines Vorkommens glich er der vorigen Art.

Rhodovibrio parvus Molisch.

(Tafel II, Fig. 10.)

Am 24. November 1905 gab ich in eine 1 m lange, an einem Ende zugeschmolzene Röhre eine tote Sumpfschnecke (Limnaeus stagnalis), füllte die Röhre mit Moldauwasser voll, verkorkte sie unter Vermeidung von Luftblasen und stellte sie dann mit dem Korkende in ein mit Wasser gefülltes Gefäß an ein Fenster, wo die Röhre diffusem Tageslicht ausgesetzt blieb. Am 15. Januar 1906 färbte sich die Flüssigkeit besonders an der Lichtseite schwach rot. Anfang Februar war sie bereits tiefrot. Die Ursache der Färbung war ein sehr kleiner Vibrio, der die physiologischen Eigenschaften der schwefelkörnchenfreien Purpurbakterien besaß und den ich daher als Rhodovibrio bezeichne. Ein zweites Mal erhielt ich denselben Organismus, als ich gleichzeitig und

unter ganz denselben Verhältnissen 3 Regenwürmer in der Röhre faulen ließ. Die Rotfärbung der Flüssigkeit stellte sich nur später, nämlich Ende März ein.

Mikroskopisches Aussehen: Die Zellen erscheinen bei schwacher (300) Vergrößerung ähnlich farblosen Kokken. Bei starker Vergrößerung und nach vorhergegangener Färbung erkennt man ihre eigentliche Gestalt: sie sind bohnenförmig oder schwach gekrümmte Kurzstäbchen. 1,6—2,1 μ lang und 0.9 μ dick. Gewöhnlich trägt jede Zelle an einem Ende eine sehr lange, wellig gekrümmte Geißel, selten 2. Die Geißellänge schwankt gewöhnlich zwischen 9—13 μ (die Wellen nicht eingerechnet). Sämtliche Messungen wurden bei dieser Art an Geißelpräparaten durchgeführt, die nach Pepplers Methode gefärbt waren.

Die Eigenbewegung ist sehr deutlich, geradlinig, unregelmäßig oder hin- und herschießend. Sie zeigen die Schreckbewegung, gehen in die Lichtfalle und sind für verdünnte Säuren positiv chemotaktisch.

Farbe: Einzelne Zellen erscheinen selbst bei schwacher Vergrößerung farblos. Lockt man sie aber z. B. durch CO_2 in eine Kapillare, so erscheinen die dichten Schwärme schön rot.

Färbbarkeit: Färbt sich mit Karbolfuchsin sehr gut, mit Methylenblau weniger gut.

Sauerstoffbedürfnis: Liebt eine sehr niedrige Sauerstoffspannung.

Rhodocystis gelatinosa Molisch.

(Tafel I. Fig. 8.)

Mikroskopisches Aussehen: Stäbchen, an den Enden abgerundet, in der Mitte häufig etwas verschmälert. Länge 2—5 μ, Dicke 0,6 μ. Einzelne Zellen oder verschieden große Gruppen von Zellen liegen, wie man namentlich in flüssiger Tusche konstatieren kann, in einer farblosen Schleimmasse eingebettet und zahlreiche solcher Gruppen können mehr minder ausgedehnte gelatinöse Häute bilden. Die einzelnen Zellen sind in dem Schleimhof nicht ganz wirr durcheinander, zwar auch nicht parallel, aber doch häufig vorherrschend nach einer Richtung gelagert, etwa wie die Äste eines Sträuchleins. Das Bild der Kolonien in Tusche ist so charakteristisch, daß die Bakterie daran leicht zu erkennen ist.

Färbbarkeit: Die Zellen färben sich mit verschiedenen Anilin-Farbstoffen (Fuchsin, Methylenblau) ziemlich leicht, die Schleimmasse aber nicht.

Farbstoff: Die einzelnen Zellen erscheinen farblos, aber schon kleine Kolonien zeigen eine schwach pfirsichrote Färbung. An Farbstoffen enthält die Bakterie Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin.

Vorkommen: Wurde zuerst in einem mit Flußwasser gefüllten, 30 cm hohen Glaszylinder beobachtet, in dem Blätter von Acer Pseudoplatanus vom 7. Oktober 1905 an, dem Sonnenlichte ausgesetzt, gelegen waren. Am 13. Dezember trat die Bakterie an der vom Lichte abgewendeten Seite, weil hier infolge der Lichtbrechung ein Maximum von Licht vorhanden war, in Form von roten Inseln und Häuten auf. Später fand ich dieselbe Bakterie unter denselben Bedingungen häufig auch in Heuwasser.

Rhodonostoc capsulatum Molisch.

(Tafel II, Fig. 9.)

Mikroskopisches Aussehen: Kokken oder an den Enden abgerundete kokkenartige Kurzstäbchen, einzeln, zu zweien oder mehreren beisammen. Im letzteren Falle bilden sie kurze rosenkranzartige Ketten. Die Bakterie ist von einer in Tuscheflüssigkeit wunderbar hervortretenden farblosen Schleimkapsel umhüllt. Siehe Fig. 9, Tafel II. Die einzelnen Zellen erreichen (ohne Schleimkapsel) im größten Durchmesser eine Länge von 1,4—2 μ. Die Schleimkapseln sind, wenn sie nur eine oder zwei Zellen umhüllen, meist kugelförmig, wenn mehrere Zellen Ketten bilden, ellipsoidisch oder wurstförmig. Die Kapsel ist zumeist 2,7—8 μ breit und kann 21 μ und darüber lang werden. Die Messungen beziehen sich auf Präparate, die in Tuscheflüssigkeit liegen.

Eigenbewegung: Fehlt.

Färbbarkeit: Färbt sich mäßig stark mit wässerigem Methylenblau, Fuchsin usw. Die Kapsel bleibt hierbei ungefärbt.

Farbstoff: Die Zellen erscheinen im Mikroskop farblos, Massenkulturen, z. B. Stichkulturen, braunrot. Der braune Stich dieser Bakterie ist recht charakteristisch. Sie enthält Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin.

Sauerstoffbedürfnis: Sehr mikroaërophil.

Lichtbedürfnis: Von Oktober an bis Februar kamen wegen zu geringer Lichtintensität die Kulturen nicht auf. Verlangt viel Licht.

Gelatinestich: Fadenartig, braunrot.

Chemische Leistungen: Verflüssigt Gelatine nicht.

Vorkommen: Tritt in Flußwasser, das faulendes Heu oder faulende Blätter von Pseudoplatanus enthält, bei intensiver Beleuchtung häufig auf.

Rhodospirillum photometricum Molisch.[1])

(Tafel I, Fig. 5 u. 6.)

Mikroskopisches Aussehen: Dickes, mittellanges Spirillum. 5 bis 13 μ lang, zumeist 5—8 μ lang und 1,4 μ dick (lebend gemessen); gewöhnlich mit einer steilen S-förmigen Windung, an jedem Ende je eine Geißel, etwa von der Länge der Zelle oder noch länger. (Siehe die Figuren 5 u. 6, Tafel I.)

Eigenbewegung: Bewegt sich äußerst lebhaft, geradlinig, oft hin- und herschießend, zeigt in ausgezeichneter Weise die Schreckbewegung und geht in die Lichtfalle.

Färbbarkeit: Färbt sich mit verschiedenen Anilinfarbstoffen leicht.

Farbstoff: Einzelne Bakterien erscheinen farblos, aber schon kleine Häufchen verraten ihre rote Farbe. Werden sie in großer Menge chemotaktisch in die Kapillare gelockt, so zeigt der dichte, sich ansammelnde Schwarm eine intensiv rote Farbe. Die Bakterie enthält Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin.

Sauerstoffbedürfnis: Ist mikroaërophil, wächst auch anaërob. Reinkulturen gelangen mir überhaupt nur bei Abschluß des Sauerstoffs unter Deckglas im Lichte. (Fig. 5, Tafel I.) Auf Agar- oder Gelatineplatten mißlangen die Kulturen bei Luftzutritt stets.

Vorkommen: Tritt fast regelmäßig nach etwa 2—3 Monaten im Moldauwasser auf, in dem bei intensiver Beleuchtung Heu oder Pferdemist fault. Die Flüssigkeitsschichte muß 20—30 cm hoch sein, damit der Sauerstoff nur in beschränkter Weise Zutritt hat.

Rhodospirillum giganteum Molisch.

(Tafel I, Fig. 7.)

Mit der vorigen Art sehr nah verwandt und übereinstimmend, aber viel länger und etwas schmäler als die vorige Art mit 1—6 Windungen. Die Länge beträgt 9—70 μ, vorherrschend 14—20 μ. Die Dicke beträgt etwa 1,2 μ (lebend gemessen). Reinkulturen gelangen nicht. Tritt wie die vorige Art unter den gleichen Bedingungen im Flußwasser, dem Heu oder Pferdemist zugesetzt war, oft in so ungeheuerer Menge auf, daß das Wasser bis hinauf rotbraun gefärbt erscheint.

[1]) Ich bezeichne alle roten Spirillen, die Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin enthalten und die Schwefel in Form von sichtbaren Kügelchen nicht einzulagern vermögen, als Rhodospirillum, zum Unterschiede von der von Winogradsky aufgestellten Gattung Thiospirillum, die dieses Vermögen besitzt.

Abgesehen von den beiden eben beschriebenen Rhodospirillen gibt es noch zahlreiche Rhodospirillum-Arten, die durchweg kleiner sind, unter ganz denselben Verhältnissen auftreten und sich auch physiologisch im wesentlichen so verhalten wie die beschriebenen. Der Systematiker hat da, da es sich um derzeit noch unbekannte Arten handelt, noch genug zu tun. Ich selbst sehe von einer Beschreibung derselben ab, da mir Reinkulturen nicht zur Verfügung standen.

Zur Gattung Rhodospirillum gehört auch das Spirillum rubrum v. Esmarch, das der genannte Autor aus einer toten Maus gezüchtet hatte (siehe S. 9—10). Wie ich mich überzeugte, enthält diese Bakterie Bakteriopurpurin und Bakteriochlorin, besitzt nicht die Fähigkeit, Schwefel in Form von Kügelchen einzulagern, ist also eine Purpurbakterie aus der Gruppe der Athiorhodaceae (siehe S. 27—28) und wird daher von jetzt an als Rhodospirillum rubrum (Esmarch) Molisch zu bezeichnen sein. — Erwähnen möchte ich noch, daß ich mir viel Mühe gab, ein marines, Schwefel einlagerndes, ziemlich großes Chromatium, das regelmäßig in mit faulendem Seegras oder Seetieren versetztem Meerwasser auftrat, (siehe S. 6) rein zu züchten. Dieses Chromatium wächst im Meerwasser-Pepton-Dextrin (Meerwasser + $^1/_2$ Proz. Pepton + $^1/_2$ Proz. Dextrin) sehr gut, läßt sich auch in Gelatine- oder Agarstich und in Schüttelkulturen ohne Zusatz von Schwefelwasserstoff vortrefflich ziehen — vorausgesetzt, daß die Lichtintensität eine ziemlich große ist. Das ist auch der Grund, warum diese Bakterie in der Regel am besten im Sommer wächst, hingegen schlecht oder gar nicht während des Winters. Sie ist stark mikroaërophil und bildet daher in festen Nährmedien ihre tief rosaroten oder karminroten Kolonien in der Tiefe ziemlich entfernt von der Oberfläche aus.

Ich habe derzeit dieses Chromatium schon fast rein, nämlich nur noch mit einer anderen unbeweglichen stabförmigen Purpurbakterie vermengt, trotz mehrfacher Bemühungen konnte ich es von diesem ständigen Begleiter nicht befreien, allein ich hoffe die tadellose Reinzucht in nächster Zeit fertig zu bringen und gedenke dann aus verschiedenen Gründen noch an anderem Orte darauf zurückzukommen.

3. Übersicht über die Purpurbakterien
(als physiologische Gruppe betrachtet).

In der Ordnung der Thiobacteria unterschied man bisher zwei Familien: 1. die farblosen Schwefelbakterien oder Beggiatoaceae und 2. die Purpurbakterien oder Rhodobacteriaceae. Als wesentlicher

Charakter wurde den Thiobakterien die merkwürdige Eigenschaft zugeschrieben, in ihrem Innern Schwefel einzulagern, oder wenn man die von Nathansohn[1]) neu entdeckten auch dazu zählt, wenigstens außerhalb des Zellenleibes reinen Schwefel zur Abscheidung zu bringen. Die von mir entdeckte Gruppe von Purpurbakterien scheidet aber überhaupt nicht Schwefel ab, diese Fähigkeit geht ihnen, obwohl sie sonst in den physiologischen und morphologischen Eigenschaften mit den schwefelhaltigen Purpurbakterien vielfach übereinstimmen, gänzlich ab. Ich wäre daher dafür, daß man die Purpurbakterien von den farblosen Schwefelbakterien als eigene Ordnung abtrennt, hauptsächlich deshalb, weil sich auf Grund meiner Untersuchungen herausgestellt hat, daß eine große Zahl von Purpurbakterien Schwefel überhaupt nicht einlagern kann, also dem wesentlichen Charaktermerkmal der Thiobakterien gar nicht entspricht.

Die Purpurbakterien enthalten, wie ich später (siehe S. 73ff.) zeigen werde, zwei ungemein charakteristische Farbstoffe, das rote Bakteriopurpurin und das grüne Bakteriochlorin. Und so wie man bei der systematischen Gliederung der Algen den Farbstoffen eine große Wichtigkeit zuerkennt, ich erinnere nur an die Phykochromaceen, Florideen und andere, so erscheint es mir auch speziell bei den Purpurbakterien, die infolge der Lebensweise, ihres Vorkommens und ihrer Farbstoffe eine ziemlich gut umschriebene physiologische Gruppe bilden, zweckmäßig, sie alle wegen ihrer eigentümlichen Farbstoffe zusammenzufassen. Ich bin mir wohl bewußt, daß sich gegen eine solche Abgrenzung vom systematischen Standpunkt Bedenken erheben lassen, zumal da ja die Rhodobakterien morphologisch vielfach von einander abweichen und mit anderen bekannten farblosen Gattungen, abgesehen von dem Farbstoff, übereinstimmen.

Würde man die Purpurbakterien auf Grund ihrer morphologischen Merkmale, die ja bei der systematischen Sonderung die erste Rolle spielen müssen, allein gruppieren, so würden sie sich über das ganze Bakteriensystem verteilen. Vorläufig scheint mir eine physiologische Gruppierung ungemein zweckmäßig, ich stehe also, indem ich unter Purpurbakterien nicht eine natürliche Gruppe von Organismen verstehe, sondern eine physiologische, auf demselben Standpunkte wie Winogradsky bezüglich der Schwefelbakterien.

[1]) Nathansohn, A., Über eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. Mitteilg. a. d. zoolog. Station zu Neapel, 15. Band, 4. Heft, 1902, p. 655.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, fasse ich sämtliche bisher bekannten Purpurbakterien zusammen zur Ordnung der Rhodobacteria, die sich wieder in 2 Familien gliedert, 1. in die Familie der Thiorhodaceae und 2. in die der Athiorhodaceae. Die erste umfaßt diejenigen Purpurbakterien, die in ihrem Innern freien Schwefel in sichtbaren Kügelchen einzulagern vermögen, die 2. umgreift hingegen alle die Purpurbakterien, denen die erwähnte Fähigkeit vollständig abgeht.

Unter Zugrundelegung der von Winogradsky[1]) für die schwefelkörnchenhaltigen Purpurbakterien gegebenen systematischen Scheidung und unter Beibehaltung der von Migula[2]) eingeführten Nomenklatur der dazu gehörigen Familien sowie auf Grund meiner Erfahrungen auf dem Gebiete der Athiorhodaceae gelangen wir zu folgender Gruppierung.

Ordnung **Rhodobacteria.**

Bakterien, deren Zellinhalt durch Bakteriopurpurin und (soweit untersucht) durch Bakteriochlorin rosa, rot, violett oder karminrot gefärbt sind.

A. **Zellen besitzen die Fähigkeit, freien Schwefel im Zellinhalt in Form von Kügelchen abzulagern** I. Familie **Thiorhodaceae**

a. Zellen zu Familien vereinigt

α) Teilung der Zellen nach 3 Richtungen des Raumes . . . . 1. Unterfam. Thiocapsaceae

β) Teilung der Zellen zuerst nach 3, dann nach 2 Richtungen des Raumes . 2. Unterfam. Lamprocystaceae

γ) Teilung der Zellen nach 2 Richtungen des Raumes . . . . 3. Unterfam. Thiopediaceae

δ) Teilung der Zahlen nach 1 Richtung des Raumes . . . . 4. Unterfam. Amoebobacteriaceae

---

[1]) Winogradsky, S., Beiträge usw. l. c. S. 105. Winogradsky kam auf Grund von Deckglaskulturen und kontinuierlichen mikroskopischen Beobachtungen zu der Überzeugung, daß die einander recht ähnlichen Zellen verschiedener Purpurbakterien durch ihre Wachstumsvorgänge und Gruppierungserscheinungen wohl auseinander zu halten sind — im Gegensatze zu Zopf, der genetische Zusammenhänge zwischen den von Winogradsky aufgestellten Gattungen annimmt. Vgl. Zopf, W., „Zur Kenntnis des regressiven Entwicklungsganges der Beggiatoen nebst einer Kritik der Winogradsky'schen Auffassung betreffs der Morphologie der roten Schwefelbakterien. Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen“, Leipzig 1895, Heft 5, S. 37. — Vgl. ferner Zopf, W., „Zur Morphologie der Spaltpflanzen (Spaltpilze und Spaltalgen)“. Leipzig 1882.

[2]) Migula, W., System der Bakterien, 2. Bd., Jena 1900, S. 1042ff.

b. Zellen frei

α) Zellen zeitlebens schwärmfähig 5. Unterfam. Chromatiaceae

β) Nicht oder nicht zeitlebens schwärmfähig. 6. Unterfam. Rhodocapsaceae[1]

B. **Zellen besitzen nicht die Fähigkeit, freien Schwefel im Zellinhalt in Form von Kügelchen abzulagern.** II. Familie **Athiorhodaceae**

a. Zellen zu Familien vereinigt

Teilung der Zellen nach einer Richtung des Raumes

α) Zellen stäbchenartig, zu vielen in einer gemeinsamen Schleimhülle eingebettet . . . Rhodocystis

β) Zellen rund oder Kurzstäbchen, perlschnurartig aneinander gereiht, jeder Faden von einer Schleimhülle umgeben . . . . . . Rhodonostoc

b. Zellen frei

Teilung der Zellen nach einer Richtung des Raumes

α) Zellen kugelig, unbeweglich . . . . . . Rhodococcus

β) Zellen gerade Stäbchen, unbeweglich . . . Rhodobacterium

γ) Zellen, Stäbchen beweglich . . . . Rhodobacillus

δ) Zellen kurz, bohnen- oder kommaartig gekrümmt, mit einer endständigen Geißel, lebhaft beweglich . . . . Rhodovibrio

ε) Zellen, schraubig gekrümmt, mit endständigen Geißeln oder Geißelbüscheln, lebhaft beweglich . . . . Rhodospirillum.

[1]) Vgl. Molisch, H., Zwei neue Purpurbakterien mit Schwebekörperchen Botan. Ztg. 1906, S. 223.

III.

Die Purpurbakterien in ihren Beziehungen zum Lichte.

Während die meisten Bakterien sich gegen das Licht indifferent verhalten oder von ihm geschädigt, ja getötet werden, stehen die Purpurbakterien in einem vielfachen Abhängigkeitsverhältnis vom Lichte. Grundlegende Angaben darüber verdanken wir Engelmann. Er hat bereits in seiner klassischen Arbeit über Bacterium photometricum und später in einer ausführlichen Abhandlung[1]) den verschiedenartigen Einfluß des Lichtes auf die Purpurbakterien festgestellt: die Abhängigkeit der Bewegung vom Licht, die photokinetische Induktion, die photokinetische Nachwirkung, den Einfluß plötzlicher Helligkeitsschwankungen (Schreckbewegung), der Wellenlänge, der Richtung der Lichtstrahlen und Anderes. Engelmann hat bereits den Einfluß des Lichtes auf die Geschwindigkeit der Bewegungen erkannt. Nach ihm bewegen sich die Schwärmer der Purpurbakterien innerhalb weiter Grenzen im allgemeinen um so schneller, je größer die Lichtstärke ist, besonders bei mangelhafter Ventilation. Bei konstanter Verdunklung kommen schließlich alle Formen zur Ruhe (Dunkelstarre). Die Zeit, innerhalb welcher es zur Einstellung der Bewegung kommt, wechselt, sie ist verschieden nach Individualität, der Art und den Versuchsbedingungen. Bei manchen Arten genügt eine nur wenige Sekunden, Minuten oder Stunden währende Verdunklung, bei anderen hingegen bedarf es Tage langen Lichtentzugs. Neuer Lichtzutritt hebt, wofern die Verdunklung nicht allzulange gedauert hat, die Dunkelstarre wieder auf. Die Zeit, welche zur Wiedererweckung der Bewegung notwendig ist, nennt Engelmann photokinetische Induktion. Währte der Lichtentzug nur kurze Zeit, so genügt häufig

[1]) Engelmann, Th. W., Bacterium photometricum. Pflügers Archiv XXX. Bd. 1883. S. 121. Derselbe: Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Lichte. Botan. Zeitg. 1888, S. 661.

schon eine nur wenige Sekunden oder Minuten währende Einwirkung selbst eines schwachen diffusen Lichtes für den Übergang zur Bewegung. Bei neuer Verdunklung halten dann die Bewegungen noch einige Zeit an. Engelmann hat diese Erscheinung photokinetische Nachwirkung genannt. Von Interesse ist, daß fortgesetzte Einwirkung konstanten Lichtes die Purpurbakterien gleichfalls zur Ruhe bringt und daß auf solche Schwärmer vorübergehende Verdunklung wiederbelebend wirkt.

Es ist nicht meine Absicht, im folgenden über die erwähnten Engelmannschen Untersuchungen ausführlicher zu referieren, sondern ich werde auf sie nur insoweit zu sprechen kommen, als sie meine eigenen berühren.

A. Einfluß des Lichtes auf die Bewegungen.

1. Einfluß der Richtung der Lichtstrahlen.

Die Frage, ob das Licht einen richtenden Einfluß auf die Purpurbakterien ausübe, wird von Engelmann im Großen und Ganzen verneint, von Winogradsky aber bejaht. Engelmann hat bereits die Frage aufgeworfen, ob neben der Intensität und der Wellenlänge auch die Richtung der Lichtstrahlen einen Einfluß auf die Bewegungen ausübe. Wenn man bedenkt, daß die meisten lichtempfindlichen niederen Organismen, so die Schwärmsporen der Algen sich als phototaktisch erweisen, indem sie sich bei einseitiger Beleuchtung nach der Lichtquelle hin oder von der Lichtquelle weg bewegen, ja wenn man erwägt, daß sogar die farblosen chlorophyllfreien Schwärmer von Chytridium vorax phototaktisch sein können,[1]) so ist es von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß die für Licht so außerordentlich empfindlichen Purpurbakterien auch phototaktisch sein dürften. „Inzwischen zeigte sich“ — sagt Engelmann — „hiervon nichts, und einige ausdrückliche daraufhin angestellte Versuche gaben keine ganz entschiedenen Resultate“.[2]) Nur in einem einzigen Falle schien ihm ein deutlicher Einfluß vorhanden, aber bei einer nach einer halben Stunde vorgenommenen Wiederholung des Versuchs glückte das Experiment nicht mehr. Engelmann ist daher der Meinung, daß ein Einfluß der Lichtrichtung, wenn er überhaupt existieren würde, nur in ganz unbedeutendem Maße vorhanden sei.

Zu einem etwas anderen Resultate kam Winogradsky.[3]) Er weist

---

[1]) Strasburger, E., Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Jena 1878. S. 18.

[2]) Engelmann, Th. W., Bacterium photometricum l. c. S. 121.

[3]) Winogradsky, S., Beiträge usw. l. c. S. 94

zunächst auf die bekannte Tatsache hin, daß die Purpurbakterien in den einseitig beleuchteten Massenkulturen sich namentlich an den Lichtseiten ansammeln und schließt daraus, daß sie sich in der Richtung des Lichteinfalles bewegen. Demgegenüber möchte ich aber entgegnen, daß die Anhäufung an der Lichtseite nicht auf Phototaxis beruhen muß, denn es könnte die Ansammlung noch in anderer Weise zustande kommen. Nehmen wir an, daß die Bakterien anfänglich im Querschnitte des Kulturgefäßes gleichmäßig verteilt wären, daß sie sich aber an der Lichtseite stärker vermehren oder sich hier in größerer Zahl festsetzen, so wird sich auch daraus eine üppigere Entwicklung und Anhäufung an der Lichtseite ergeben können. Dazu kommt, daß sich die unbeweglichen Purpurbakterien bezüglich der Anhäufung an der Lichtseite der Kulturgefäße genau so verhalten wie die beweglichen, es muß also die Ansammlung der unbeweglichen Formen an der Lichtseite eine andere Ursache als die Phototaxis bestimmen.

Doch abgesehen davon will Winogradsky sehr deutliche Phototaxis beobachtet haben, wenn er in einer Objektträgerkultur von Chromatium durch plötzliche Zufuhr von schwefelwasserstoffhaltigem Wasser allgemeines Schwärmen hervorruft und dann den Objektträger 0,5—1 m vom Fenster entfernt liegen läßt. Die Schwärmer sammeln sich dann an der Lichtseite in der Nähe des Deckglasrandes, einen roten Saum bildend, an, und wenden sich, falls man den Tropfen um 180° horizontal dreht, zunächst nicht nach der Fensterseite hinüber; „es müssen wieder besondere Umstände eintreten, um die festsitzenden Zellen zum Schwärmen zu bewegen. Tritt dies ein, so gelingt es, wieder durch Schwefelwasserstoffzusatz eine Ansammlung auf der Fensterseite hervorzurufen.“ Nach Winogradsky spielt also der Schwefelwasserstoffgehalt des Kulturwassers eine große Rolle in betreff der Phototaxis, da die Chromatien sich in schwach schwefelwasserstoffhaltigem oder schwefelwasserstofffreiem Wasser als nicht oder nur sehr schwach phototaktisch erweisen.

Auf das bestimmteste aber spricht sich Beijerinck für die Phototaxis von Chromatium aus.[1]) Nach dem genannten Forscher gehören die Chromatien zu den empfindlichsten Photometern, die es überhaupt gibt, indem sie stets mit unfehlbarer Sicherheit im weißen Lichte die Stelle der höchsten Intensität aufsuchen. „In den Präparaten schwimmen sie deshalb immer nach den Fensterseiten, auf der Mikroskopplatte sammeln sie sich im Focus des Spiegels.“ Bei diesen Beobachtungen

[1]) Beijerinck, M. W., Über Atmungsfiguren beweglicher Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 1. Abt. Bd. XIV. S. 844.

Beijerincks wird nicht streng zwischen der Intensitätsschwankung und der Richtung der Lichtstrahlen unterschieden und da Beijerinck Engelmanns Untersuchungen mit keinem Worte gedenkt, so liegt in der Tat der Gedanke nahe, daß Beijerinck das, was Engelmann „Schreckbewegung" genannt hat, mit der Phototaxis zusammengeworfen hat. Das Wandern der Chromatien zum Fenster spricht allerdings für Phototaxis.

Da die Frage der Phototaxis, wie aus dem Vorhergehenden erhellt, noch manche Klärung erheischt, so lenkte ich, da ich in der glücklichen Lage war, so vielerlei Purpurbakterien zu meinen Experimenten heranziehen zu können, meine Aufmerksamkeit auch auf diesen Gegenstand und will darüber im folgenden berichten.

Ich beobachtete entweder im hängenden Tropfen oder unter Deckglas oder in kleinen, 1 cm hohen und ebenso breiten Glaszylindern. Ich experimentierte im Sonnen- oder Auerlicht mit äußerst beweglichen Spirillen und Chromatien verschiedener Art des süßen und marinen Wassers.

Die meisten Versuche gaben kein positives Resultat. Die Purpurbakterien verhalten sich, während sie auf plötzliche Luftintensitätsschwankungen ungemein prompt reagieren, der Richtung des Lichtes gegenüber gewöhnlich indifferent. Nur in einzelnen Fällen gelang es mir, eine durch die Lichtrichtung hervorgerufene Ansammlung der Purpurbakterien zu beobachten, und zwar, wenn ich die Bakterien im Deckglaspräparat auf ausgehöhlten Objektivträgern luftdicht (mit Terpentinharz) einschloß und dann 8 m von einem Nordfenster entfernt das Licht einfallen ließ. Kehrte man, nachdem die Ansammlung eingetreten war, das Präparat um 180° horizontal um, so vollzog sich die Umkehr der Bakterien sehr träge, es dauerte oft ein bis mehrere Stunden, bis sie sich wieder am Lichtrande angesammelt hatten, oft blieb es bei der ursprünglichen Ansammlung oder sie verteilten sich wieder gleichmäßig im Tropfen. Eine solche Phototaxis beobachtete ich bei Rhodospirillum giganteum. Die Spirillen benahmen sich hierbei äußerst kapriziös: einzelne Präparate zeigen die Phototaxis durch mehrere Tage hindurch deutlich, andere, dasselbe Material enthaltende Tropfen zeigen unter ganz denselben Umständen von Phototaxis nichts.

Wie schon oben angegeben wurde, beobachtete Winogradsky an Chromatium Phototaxis, wenn er seine Objektträgerkulturen durch plötzliche Zufuhr von Schwefelwasserstoffwasser zum Schwärmen brachte und dann 0,5—1 m vom Fenster entfernt liegen ließ. Im Frühjahr und Sommer verfügte ich über prachtvolle Kulturen eines marinen

Chromatiums im Meerwasser mit 1 % Pepton. Diese Chromatien waren mit Schwefelkörnchen erfüllt und äußerst frisch und beweglich. Mit diesem Material machte ich zahlreiche auf Phototaxis beruhende Versuche. Aber alle meine nach der Methode Winogradskys angestellten Experimente gaben negative Resultate. Phototaxis konnte, gleichgültig ob Schwefelwasserstoff (absorbiert in Meerwasser) zugesetzt wurde oder nicht, gleichgültig, ob die Tropfen von Sauerstoff abgesperrt waren oder nicht, nicht beobachtet werden. Ob die Differenz zwischen meinen und Winogradskys Beobachtungen in der Verschiedenheit des Materials begründet ist, oder in besonderen, mir unbekannten Umständen, vermag ich nicht zu entscheiden. Wie dem auch sei, jedenfalls geht aus meinen mit zahlreichen Arten durchgeführten Versuchen bestimmt hervor, daß die Rhodobakterien sich gegenüber der Richtung des Lichtstrahls recht indifferent verhalten, und daß sie nur ausnahmsweise unter noch unbekannten Umständen positive Phototaxis erkennen lassen.

2. Einfluß plötzlicher Schwankungen der Lichtintensität.

Es gibt wenige Erscheinungen auf dem Gebiete der Mikrobiologie, die den Beobachter in der Weise frappieren und in Erstaunen setzen, wie die ans Wunderbare grenzende Empfindlichkeit der Purpurbakterien gegen plötzliche Lichtintensitätsschwankungen. Engelmann,[1]) der Entdecker dieser von ihm als „Schreckbewegung" bezeichneten Erscheinung, äußert sich darüber folgendermaßen: „Bei plötzlicher Abnahme der Lichtstärke (durch teilweises Beschatten des Spiegels, Zudrehen des Gashahns, Aufdrehen der Widerstandsschraube u. dgl.) schießen nämlich die freischwimmenden Formen plötzlich unter entgegengesetzter Rotation des Körpers eine Strecke weit — oft das Zehn- bis Zwanzigfache ihrer Länge — rückwärts. Bleibt die Lichtstärke dauernd geschwächt, so nehmen sie danach die gewöhnliche Vorwärtsbewegung mit zunächst meist wenig verminderter Geschwindigkeit wieder auf. Natürlich setzen sie ihre Bewegungen auch wieder fort, falls wieder mehr Licht zutritt".

Das Benehmen der verschiedenen Rhodobakterien gegenüber plötzlichen negativen Lichtintensitätsschwankungen ist nicht ganz gleich. Stellt man z. B. auf ein in gerader Linie dahinschwimmendes Rhodospirillum photometricum ein und erzeugt man mit der Hand vor dem Mikroskopspiegel einen $^1/_2$—1 Sekunde dauernden Schatten, so fährt das Spirillum in derselben Geraden zurück. Dauert die Beschattung länger, etwa

[1]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien l. c. S. 666.

mehrere Sekunden, so tritt bei Beginn der Intensitätsschwankung eine momentane Rückbewegung ein, aber nur auf eine kurze Strecke, oft bleibt das Spirillum, als ob es gelähmt wäre, einen Augenblick stehen. dann fährt es langsam hin und her, um bei plötzlicher Hebung der Lichtintensität wieder geradlinig davonzuschwimmen.

Trifft der Schatten ein Chromatium, so fährt es eine Strecke zurück. dreht sich, an einem Punkte verharrend, um seine Achse und schwimmt dann in beliebiger Richtung davon. Oder es schießt auf eine plötzliche Abdämpfung des Lichtes hin plötzlich, fast sprunghaft, zurück, taumelt dann wie verwirrt unter langsamer Drehung hin und her und schwimmt dann wieder weiter. Ich habe bei sämtlichen mir bekannten beweglichen Purpurbakterien die Schreckbewegung feststellen können, sowohl bei schwefelablagernden wie bei den nicht schwefelablagernden. Bei den meisten Purpurbakterien ist die rote Farbe an den einzelnen Individuen nicht zu sehen, allein wenn man in einem Präparat an einer anscheinend farblosen Bakterie die Schreckbewegung konstatiert, so kann man mit ziemlicher Sicherheit daraus schließen, daß sie nicht farblos ist, sondern zu den Purpurbakterien gehört. Es scheint demnach, daß zwischen dieser Art der Lichtempfindlichkeit und dem roten Farbstoff eine innige Beziehung besteht.

Die Angabe von Engelmann, daß die Schreckbewegung bei mangelhafter Sauerstoffzufuhr deutlicher wird, kann ich vollends bestätigen, ja ich habe oft beobachtet, daß die Schreckbewegung überhaupt erst bei Sauerstoffnot eintritt. Wenn man daher diese eigenartige Reaktion studieren will, so ist es am besten, das Deckglaspräparat mit Terpentinharz luftdicht abzuschließen (vgl. S. 13) und dann zu beobachten. In solchen Präparaten bleiben, wie noch genauer auseinandergesetzt werden soll, verschiedene Rhodobakterien wochen-, ja oft monatelang am Leben und in Bewegung.

Ich habe ferner gefunden, daß eine 10 Sekunden und mehr dauernde Verdunkelung viele Purpurbakterien unmittelbar darauf für mehrere Sekunden gegen plötzliche negative Lichtschwankungen unempfindlich macht, so daß sie die Schreckbewegung nicht zeigen. Es macht sich also eine kurz andauernde Nachwirkung des Lichtabschlusses geltend. Es scheint, abgesehen von der reichen Sauerstoffzufuhr und andauernder Verdunkelung, noch andere Ursachen zu geben, die das Auftreten der Schreckbewegung entweder schwächen oder verhindern. Wenigstens konnte ich bei den riesig langen schlangenförmigen Schwärmern von Rhodocapsa suspensa und auch bei gewissen Süßwasser-Chromatien, die schon viele Tage oder Wochen luftdicht abgeschlossen

waren, und zwar in denselben Präparaten zeitweise die Schreckbewegung beobachten, zeitweise schwach oder gar nicht. Wir dürfen uns über dieses wechselnde Verhalten gewisser Rhodobakterien nicht allzu sehr verwundern, da ja bei den Schwärmsporen der Algen bezüglich der Phototaxis Analoges beobachtet worden ist. So sagt Strasburger[1]): „Abgesehen von den Differenzen in der Lichtstimmung der phototaktisch-photometrischen Schwärmer, die wir als von deren Entwicklungszustand abhängig erkannt hatten, mußten wir aber konstatieren, daß die Stimmung der Schwärmer einer und derselben Pflanzenart überhaupt auch von Kultur zu Kultur sehr wechseln kann. Die Ursachen dieses Wechsels entziehen sich zumeist der Kontrolle, ebenso wie es sich nicht angeben läßt, warum in dem einen Aufguß mehr große, in dem anderen mehr kleine Schwärmer gebildet werden.“

Es ist von Interesse, daß von Strasburger[2]) auch bei grünen Algenschwärmern eine der Schreckbewegung ähnliche, durch plötzliche Lichtintensitätsschwankungen hervorgerufene Bewegung beobachtet worden ist. Wenn das auf die Schwärmer von Botrydium granulatum einstrahlende Helligkeitsmaß durch Einschalten von Schirmen plötzlich vermindert wird, so macht sich eine „Erschütterung“ geltend: „Die parallel nebeneinander laufenden Schwärmer schwenken dann plötzlich zur Seite ab, manche drehen sich selbst im Kreise; doch das dauert nur einen Augenblick und sie nehmen ihre verlassenen Bahnen wieder auf.“ Bei Helligkeitssteigerung bleibt die Erschütterung aus. Im Gegensatz zu Botrydium zeigen die grün gefärbten Schwärmer von Bryopsis plumosa nicht bei negativen, sondern bei positiven Lichtintensitätsschwankungen, also bei plötzlicher Erhöhung der Helligkeit die Erschütterung.

Diese Erschütterung, wie sie von Strasburger genannt wurde, ist jedoch bei grünen Algenschwärmern und grünen Flagellaten verbreiteter, als man bisher angenommen hat. Ein ausgezeichnetes Beispiel nach dieser Richtung stellen gewöhnliche Euglenen dar, wie sie in Heuinfusen oft auftreten.

Schwimmt eine Euglena im luftdicht abgeschlossenen Deckglaspräparat dahin und erzeugt man mit der Hand vor dem Spiegel des Mikroskops eine plötzliche Beschattung, jedoch so, daß man die Euglena noch sehen kann, so gibt die Euglena ihre Bewegungsrichtung auf, dreht sich, mit ihren beiden Enden Kreise oder Ellipsen beschreibend und sich dabei öfters überschlagend, 1—6 mal oder noch öfters herum

[1]) Strasburger, E., l. c. S. 39.
[2]) Strasburger, E., l. c. S. 25.

und schwimmt dann, nach und nach ins Gleichgewicht kommend, wieder weiter. Die mehr geradlinige Bewegung setzt gewöhnlich wieder gleich ein, sowie die Beschattung aufhört. Einen geradezu köstlichen Anblick gewährt es, wenn man eine dichte Versammlung von Euglenen plötzlich beschattet. Sowie der Schatten das Gesichtsfeld trifft, halten die Euglenen, ähnlich wie Zirkuspferde auf den Wink ihres Dresseurs, in ihrer bisherigen Bewegung ein, ein allgemeines Taumeln, verbunden mit Purzelbäumen, erfaßt die ganze Gesellschaft, das nach einiger Zeit von selbst oder bei Aufhebung der Beschattung sofort der normalen Bewegung weicht.

Ebenso wie bei den Purpurbakterien zeigt sich auch hier eine durch längere Zeit andauernde Verdunkelung induzierte physiologische Nachwirkung: Wenn gut reagierende Euglenen eine Minute oder länger dem Lichte entzogen werden, so zeigen sie in den nächsten Sekunden die „Erschütterung" nicht. Hat das Licht aber wieder auf die Euglenen einige Zeit eingewirkt, so stellt sie sich bei Beschattung wieder prompt ein. Auf plötzliche Erhöhung der Helligkeit reagieren die Euglenen nicht mit einer Erschütterung, sie verhalten sich also in diesem Punkte so wie die Botrydiumschwärmer und die Rhodobakterien.

Bereits Engelmann[1]) hat gefunden, daß die Euglenen auch in die Lichtfalle gehen. Er hat sich aber meines Wissens darüber nicht ausgesprochen, ob hier die Lichtintensitätsschwankung oder die Richtung des einfallenden Strahles das Maßgebende ist. Nach den von mir darüber angestellten Beobachtungen können hier beide Erscheinungen zusammenwirken, um die Euglenen in das Lichtfeld zu führen. Die Euglenen schwimmen, an die Grenze von Hell und Dunkel kommend, nicht wie die Purpurbakterien geradlinig zurück, sondern sie wenden sich häufig mit ihrem Kopfende bloß um 180° vom finstern Rande weg oder sie drehen sich taumelnd im Kreise herum, schwimmen aber im letzteren Falle dann doch häufig ins Finstere hinein. Nach einiger Zeit kommen sie aber daraus wieder hervor, wahrscheinlich weil das vom Lichtfelde kommende zerstreute Licht phototaktisch auf sie einwirkt.

Die Schreckbewegung hat Engelmann zu einem schönen Experimente benutzt, um die Purpurbakterien auf einem bestimmten Areal einzufangen: „Auf den hier beschriebenen Tatsachen beruht es, daß eine scharf umschriebene, konstant beleuchtete Stelle in einem übrigens völlig dunkeln Tropfen wie eine Falle auf die Purpurbakterien wirkt. Sie

[1]) Engelmann, Th. W., Über Licht- und Farbenperzeption niederster Organismen. Pflügers Archiv XXIX. Bd. 1882. S. 395.

können wohl hinein, da die plötzliche Steigerung der Lichtstärke beim Überschreiten der Grenze von außen nach innen nur fördernd auf die Vorwärtsbewegung wirkt. Heraus können sie aber nicht, da die plötzliche Helligkeitsabnahme beim Überschreiten der Grenze von innen nach außen sofort Schreckbewegung veranlaßt, welche die Bakterien wieder in das erleuchtete Feld zurückführt."[1]) Engelmann benutzte als Lichtfalle entweder das mittelst des Abbeschen Kondensors entworfene Bild des Lichtbogens eines kleinen an Stelle des Spiegels angebrachten Glühlämpchens oder das in gleicher Weise erzeugte Bild einer Öffnung in einem undurchsichtigen, zwischen Lichtquelle und Mikroskopspiegel befindlichen Schirm (Stanniolblatt).

In einfacher Weise erzielte ich die Lichtfalle in folgender Weise. Auf das möglichst kleine Loch der Blende lege ich ein mattschwarzes Papier, in das ich mit einer Nadelspitze ein kleines Loch gemacht habe, so darauf, daß sich die Mittelpunkte des Blenden- und Papierloches decken. Auf diese Weise entsteht bei richtiger Spiegelbeleuchtung ein sehr kleiner, ungemein heller Kreis, auf den das Präparat zu liegen kommt. Zur Abhaltung alles überflüssigen Ober- und Seitenlichtes benütze ich einen schwarzen Dunkelsturz aus Pappendeckel, der vorn unten ein entsprechend großes Loch für den Lichteinfall besitzt und oben gleichfalls abgeschlossen erscheint bis auf eine Öffnung, die dem Tubus den Durchtritt gestattet. Es kommt also zum Präparate nur Licht durch die Blende, alles andere Licht wird abgehalten. Für viele Fälle genügt es auch, mit sehr kleiner Blendenöffnung zu arbeiten und vor das Präparat zur Abhaltung des Vorderlichtes auf den Objekttisch ein schwarzes Papier vorzulegen. Selbstverständlich ist dieses Verfahren nicht so exakt wie das erstere. Auf die angegebene Weise gelingt es, die im Präparate gleichmäßig zerstreuten Bakterien in kurzer Zeit in dem winzigen Lichtfeld zu versammeln. Die Ansammlung wird, falls es im Präparate von Bakterien wimmelt, oft schon nach wenigen Minuten eine so ungeheure, daß das Lichtfeld als rötlicher Kreis erscheint. Die Fig. 16, Tafel III, zeigt eine solche kreisförmige Lichtfalle in einem luftdicht verschlossenen Deckglaspräparat, in der sich Rhodospirillum photometricum binnen fünf Minuten in so ungeheurer Zahl einfing, daß das Lichtfeld als rötliche Kreisfläche erschien und photographiert werden konnte.

Alle beweglichen Purpurbakterien gehen bei Realisierung gewisser Umstände in die Lichtfalle, sowohl die schwefelkörnchenfreien als auch die schwefelkörnchenführenden.

Schattenfiguren. Man kann die außerordentliche Em-

[1]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien usw. S. 667.

pfindlichkeit der Purpurbakterien gegenüber Lichtintensitätsschwankungen benützen, um im Deckglaspräparat sehr scharfe Schattenbilder zu erzeugen. Ich verfahre dabei in folgender Weise: Ein ausgehöhlter Objektträger wird mit einigen Tropfen einer sehr dichten Kultur von Rhodospirillum photometricum beschickt, darüber unter Vermeidung jedes Luftbläschens ein Deckgläschen gelegt und mit Terpentinharz rasch verschlossen. Nach dem Verschluß ziehen sich die Bakterien gewöhnlich gegen das Zentrum des Deckglases zurück und bilden hier rote Anhäufungen. Nach einiger Zeit breiten sie sich einem Nebel gleich wieder gleichmäßig unter dem Deckglas aus. Legt man nun auf das Deckglas ein Kreuz aus schwarzem Papier oder Stanniol und setzt das Ganze dem starken diffusen Tageslicht oder noch besser dem Lichte eines Auerbrenners aus, so erblickt man, wenn man nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde das Papierkreuz entfernt, im Präparat ein deutliches glashelles Kreuz, während die Umgebung trüb erscheint. Die unterm schwarzen Papier befindlichen Bakterien wandern nach und nach alle aus der Dunkelheit heraus, neue kommen nicht hinein, es wird daher der beschattete Raum schließlich leer. Unmittelbar nach dem Abheben des Papierkreuzes erblickt man im durchfallenden Lichte ein farbloses Kreuz (Fig. 17, Tafel III), und wenn man jetzt acht gibt, so kann man noch eine andere, höchst auffallende Erscheinung beobachten: es füllt sich die Fläche des Kreuzes nunmehr in wenigen Minuten mit den Bakterien, sie stürzen in das leer gewordene Areal, und aus dem Negativbild entsteht jetzt ein Positiv. Wie ist das zu erklären? Meiner Meinung nach wird diese Erscheinung durch Chemotaxis bedingt. Infolge der Beschattung werden die Bakterien alle nach außen gelockt und sammeln sich, durch das intensive Licht gefesselt, in dem Lichtfelde an. Hier erzeugen sie Stoffwechselprodukte, die ihnen eigentlich unangenehm sind, trotzdem bleiben sie aber beisammen, weil ihr Bestreben, im intensiven Lichte zu verweilen, viel größer ist als ihre negative Chemotaxis. In dem Momente, wo das Dunkelfeld aufgehellt wird, kommt das chemotaktische Streben allein zur Geltung, und sie eilen daher in den vorhin beschatteten Raum, weil die ihnen unangenehmen Ausscheidungen ihres eigenen Körpers hier in geringerer Menge vorhanden sind. Es könnte aber auch positive Chemotaxis eine Rolle spielen. Stellen wir uns vor, daß die Nährstoffe anfangs im Präparate gleich verteilt sind. Mit der eintretenden Beschattung häufen sich die Bakterien, aus dem Dunkeln hervorkommend, im Lichte an, und werden hier die Nährstoffe stärker in Anspruch nehmen als im Schatten. In diesem werden also mehr Nährstoffe sein. Hört die Beschattung auf, so wird das Plus an

Nährstoffen die Bakterien in die beschattete Region locken, es werden demnach positive und negative Chemotaxis gleichsinnig zusammenwirken, um die Bakterien im früheren Dunkelfeld zusammenzuführen. Ich bin geneigt, diese Erklärung für richtig zu halten, weil, wie ich später zeigen werde, die Purpurbakterien tatsächlich gegenüber verschiedenen Stoffen eine hochgradige Chemotaxis bekunden.

Wenn die Purpurbakterien in einer Lichtfalle gefangen werden und die lokale Beleuchtung dann aufgehoben und durch eine gleichmäßige ersetzt wird, so verlassen sie sehr schnell das frühere Lichtfeld, dasselbe erscheint dann wie ausgekehrt, wie ein Negativbild der früheren Anhäufung. Die Ursache dieser Erscheinung ist sicher dieselbe wie in dem vorhergehenden Falle.

Die eben beschriebenen Erscheinungen lassen sich nicht immer beobachten, am besten sah ich sie an luftdicht abgeschlossenen Präparaten, die nicht älter als 1 Tag waren. — Es ist erstaunlich, wie rasch die Schattenfiguren entstehen. Verfügt man über gutes, lebhaft bewegliches Material, z. B. von Rhodospirillum photometricum, so genügt eine 20 Sekunden währende Verdunkelung durch ein Staniolblättchen, um eine Schattenfigur hervorzurufen. Die Bakterien reagieren so fein, daß es gelingt, Schriftzüge durch Bakterien zur Anschauung zu bringen. Schreibt man mit Tinte auf das Deckglas irgend einen Buchstaben, ein Wort oder eine Ziffer, und setzt man das Präparat dann dem Lampenlichte aus, so erhält man nach einiger Zeit beim raschen Wegwischen der Tinte ein dem gemachten Zeichen entsprechendes Schattenbild von großer Schärfe. Wie ich mich oft überzeugt habe, ist es, um Schattenbilder zu erzeugen, gar nicht notwendig, scharfe Kontraste zwischen Hell und Dunkel zu schaffen. Ein Stück weißes Papier oder mattes Glas oder die in einem Objektträger mit einem Diamanten eingeritzte Schrift genügt schon für die Erzeugung von Schattenbildern — ein schöner Beweis für die außerordentliche Lichtempfindlichkeit der Purpurbakterien. Wirkt die Beschattung auf die Bakterien lange Zeit (mehrere Stunden oder 1—2 Tage) ein, so bleibt nach Hinwegräumung des schattenerzeugenden Körpers das Schattenbild in seiner Umgrenzung lange Zeit erhalten, weil an der Grenze zwischen Hell und Dunkel viele Bakterien zur Ruhe kommen, sich festsetzen, am Orte in Ruhe verbleiben und dadurch die Grenze markieren.

3. Einfluß der Lichtfarbe.

Obwohl ich in dieser Beziehung den grundlegenden Untersuchungen Engelmanns nicht viel Neues hinzuzufügen habe, so möchte ich des

Zusammenhanges wegen, und weil ich auch die von mir neu entdeckten Arten in den Kreis meiner Betrachtungen zog, die gewisse Verschiedenheiten in ihrem Verhalten gegenüber den bekannten aufwiesen, doch darauf, wenn auch nur ganz kurz, eingehen.

Um den Einfluß des Lichtes verschiedener Wellenlängen auf die Schreckbewegung zu studieren, bediente ich mich der Farbgläser, wie sie vor kurzem von dem bekannten Glaswerk Schott und Genossen in Jena in den Handel gebracht wurden.[1])

Leider sind diese Gläser wegen der Schwierigkeit der Herstellung so teuer, daß ich nur mit einer beschränkten Anzahl arbeiten konnte. Immerhin bekommt man doch einen orientierenden Aufschluß über den Einfluß der Lichtfarbe auf die Schreckbewegung. Es standen mir folgende Gläser zur Verfügung:

1. Tiefrotes Kupferrubinglas, durchlässig nur für Rot bis λ 0,6 μ
2. Gelbgrünes Chromglas, durchlässig für D—F
3. Grasgrünes Kupferchromglas „ „ D—F und darüber
4. Blauviolettglas „ „ Blau und Violett
5. Violettglas „ „ Violett G—H.

Die mir zu Gebote stehenden Glasplatten waren quadratische Platten von etwa 10 cm Länge und durchschnittlich 3 mm Dicke. Bei Verwendung von Auer- oder Tageslicht konnte gezeigt werden, daß alle von den benutzten Gläsern durchgelassenen leuchtenden Strahlen die Schreckbewegung bzw. die Anhäufung in der Lichtfalle hervorzurufen imstande sind. Aber auch die durch ein Jod-Schwefelkohlenstoffgefäß abgesiebten dunkeln Wärmestrahlen im Ultrarot veranlassen rasch eine Anhäufung der Purpurbakterien, so daß man die dunkeln Wärmestrahlen des Sonnen- und Auerlichtes ebenso wie die leuchtenden Strahlen zur Licht- oder besser gesagt zur Wärmefalle verwenden kann.

Engelmann hat bereits die wichtige Tatsache festgestellt, daß alle beweglichen Purpurbakterien nicht nur sämtliche für unser Auge wahrnehmbaren Strahlen von Dunkelheit unterscheiden, sondern auch gewisse für uns unsichtbare, ultrarote und diese ganz besonders scharf. Nach dem genannten Autor[2]) häufen sich im Mikrospektrum die Purpurbakterien überall mehr oder minder an aber vorzugsweise im Ultrarot zwischen etwa λ 0,90 und λ 0,80 μ

[1]) Zsigmondy, R., Über Farbgläser für wissenschaftliche und technische Zwecke. Zeitschrift für Instrumentenkunde. 1901. Heft 4.

Grebe, C., Über Jenenser Lichtfilter. Ebenda.

[2]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien usw. l. c. S. 677.

und demnächst in einer schmalen Zone im Orangegelb zwischen 0,61 und 0,58 und in schnell abnehmendem Grade zwischen ungefähr λ 0,55 und λ 0,52, Blau und Violett, am wenigsten im Rot etwa zwischen λ 0,61 und 0,75, im Ultrarot jenseits etwa λ 1,0 μ und im Ultraviolett.

Engelmann arbeitete hauptsächlich mit Bacterium photometricum und einigen anderen ihm seinerseits bekannten Rhodobakterien. Meine gleichfalls mit dem Engelmannschen Mikrospektralobjektive durchgeführten Untersuchungen bestätigen im wesentlichen die Befunde Engelmanns, doch möchte ich erwähnen, daß nicht alle von mir geprüften Purpurbakterien immer so scharf reagieren. Zwar konnten stets im ganzen Bereich des Mikrospektrums die Purpurbakterien schwärmend angetroffen und auch stets die merkwürdige Anhäufung im Ultrarot konstatiert werden, aber bei gewissen Arten, z. B. bei Rhodospirillum giganteum und Rh. photometricum habe ich im Tageslichte nie eine deutliche Ansammlung im Gelborange gesehen, wie sie gewisse Chromatien sehr schön zeigten, wohl aber im Grün und Blau.

Die Resultate können auch je nach den verschiedenen Lichtquellen etwas verschieden ausfallen, denn ich habe häufig gesehen, daß bei Verwendung einer Gasflamme oder eines Auerbrenners die Ansammlung im Ultrarot wahrscheinlich wegen der großen Menge von Wärmestrahlen sich rascher und deutlicher einstellt als bei Sonnenlicht, ja daß die erwähnte Anhäufung im Sonnenlichte bei gewissen Bakterien fast ganz unterbleiben kann. Hiervon ein Beispiel. Am 26. März 1906 — es war ein sonniger Tag — wurde um 11 Uhr vormittags Rhodospirillum photometricum bei starkem diffusen Licht im Mikrospektrum geprüft. Die Ansammlung war im ganzen leuchtenden Teil des Spektrums zu sehen, im Ultrarot aber sehr schwach. Als ich nun unter sonst gleichen Umständen dasselbe Präparat im Lichte einer Auerlampe prüfte, sammelten sich die Bakterien im Ultrarot so stark an, daß sie hier eine scharfbegrenzte Zone bildeten und in Haufen übereinander lagen.

Wir gelangen nun zu einer der wichtigsten Fragen, die zuerst von Engelmann aufgeworfen wurde: Ob die Purpurbakterien imstande sind, ebenso wie die chlorophyllhaltigen Organismen Sauerstoff im Lichte zu entbinden.

4. Scheiden die Purpurbakterien im Lichte Sauerstoff aus?

In seiner Abhandlung über Bacterium photometricum[1]) hat Engelmann die Frage bereits geprüft und auf Grund der von ihm eingeführten

[1]) Engelmann, Th. W., l. c. S. 104.

ungemein empfindlichen Bakterienmethode mit Nein beantwortet. Es könne daher die belebende Wirkung des Lichtes nicht auf Assimilation von CO_2 und Freiwerden von Sauerstoff zurückgeführt werden.

Da die Untersuchungen mit äußerst spärlichem Material durchgeführt wurden, nahm der genannte Forscher, als er über reichlicheres Material und verschiedene Purpurbakterien verfügte, später seine Untersuchungen nochmals auf und gelangte zu einem ganz entgegengesetzten, nämlich zu einem positiven Resultate: „Der Nachweis dieser fundamentalen Tatsache glückte bei Zoogloea-artigen Ruhezuständen von Bacterium photometricum, Monas vinosa, Warmingi und Okeni und Clathrocystis roseo-persicina, aber auch bei beweglichen Individuen und Gruppen derselben Arten."[1])

Engelmann bediente sich zum Nachweis des entbundenen Sauerstoffs außerordentlich Sauerstoff empfindlicher Bakterien und Infusorien. Um rote 2 mm^2 große Zoogloeahaufen von Rhodobakterien, die unter mit Vaselin verschlossenem Deckglas sehr starkem Sonnen- und Gaslicht oder Glühlicht ausgesetzt wurden, bemerkte er starke Anhäufungen der Spirillen oder Infusorien, die sich im Dunkeln wieder rasch zerstreuten. Nach Engelmann würden sich die Purpurbakterien im Lichte so verhalten wie grüne Organismen. Sie würden CO_2 assimilieren und dabei Sauerstoff entbinden. „Das Bakteriopurpurin ist ein echtes Chromophyll, insofern es in ihm absorbierte aktuelle Energie des Lichts in potentielle chemische Energie verwandelt". Winogradsky[2]) äußert sich über diese Ergebnisse Engelmanns folgendermaßen: „Ohne diese neuen Resultate bestimmt in Abrede zu stellen (da ich meinerseits keine direkten Versuche über die Frage gemacht habe), glaube ich mit Sicherheit behaupten zu können, daß die zugunsten oder ungunsten der Sauerstoffausscheidung bei diesen Organismen sprechenden Erscheinungen sehr wenig deutlich sein mußten, wenn Engelmann nach einer und derselben Methode mit denselben Organismen zu verschiedenen Zeiten direkt entgegengesetzte Resultate erhalten konnte. Jedenfalls genügen diese Angaben nicht, um die auffallende und unerwartete Behauptung, daß ein optisch und auch chemisch von allen Chromophyllen so abweichender Farbstoff assimilatorisch wirke, sicher zu stellen. Die günstige Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung der roten Bakterien, welche Engelmann betont, kann in meinen obigen Auseinandersetzungen ihre Erklärung finden. Ich sehe also bis auf weiteres keinen Grund, meine oben angeführten Auffassungen über die Lebensweise und Ernährung

[1]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien l. c S. 694.

[2]) Winogradsky, S., l. c S. 56.

der roten Schwefelbakterien in irgendwelcher Weise zu ändern". Winogradsky stützt sich dabei hauptsächlich auf seine bei mikroskopischen Kulturen gemachte Beobachtung, daß die Purpurbakterien nie rein vorliegen, sondern stets mit sehr kleinen grünen Organismen vermengt sind, die ihnen den Sauerstoff liefern. Nach Winogradsky wurde in Engelmanns Versuchen der Sauerstoff nicht von Purpurbakterien, sondern von den „grünen Bakterien" geliefert, die in der Natur mit den Rhodobakterien stets zusammen vorkommen.

Im allgemeinen hat man sich bisher den Auffassungen Engelmanns angeschlossen, auch Pfeffer, allein mit einem gewissen Vorbehalt[1]), denn er bemerkt, daß eine nochmalige kritische Prüfung der Purpurbakterien dringend geboten ist und daß man die Studien über sie nicht als abgeschlossen betrachten darf.

Bei diesem Stand der Sachlage war es namentlich in Anbetracht des mir in reicher Fülle zur Verfügung stehenden Materiales, der neu aufgefundenen Arten und den nunmehr gewonnenen Reinkulturen gewiß am Platze, der Frage nochmals nahezutreten. Ich ließ mich hierbei von dem Gedanken leiten, mit möglichst verschiedenen Methoden und mannigfaltigem Versuchsmaterial der Frage nach der Sauerstoffentbindung der Purpurbakterien im Lichte an den Leib zu rücken.

a) Versuche mit Absorptionsröhren.

Im März 1906 trat in großen Versuchsgläsern, die mit Moldauwasser und Trapa-Früchten beschickt waren, die Purpurbakterie Rhodocystis gelatinosa in solchen Massen auf, daß die Innenwand des ganzen Gefäßes mit einer blutroten, ziemlich dicken Haut überzogen war, die fast eine Reinkultur darstellte, insofern nur äußerst wenig grüne Algen darin eingestreut waren. Mit dem Kulturwasser und den roten Häuten, von deren Gesundheit und lebhafter Vegetation ich mich überzeugt hatte, wurden Gährungskölbchen beschickt, so daß der längere Schenkel des Kölbchens dicht mit Purpurbakterienhäuten erfüllt war. Selbstverständlich wurde mit peinlichster Sorgfalt darauf geachtet, daß am Beginne des Versuchs keine einzige Luftblase zugegen war. Als ich 4 derart adjustierte Gährungskölbchen in direktes Sonnenlicht und 4 in diffuses Tageslicht stellte, trat innerhalb mehrerer Tage nicht die mindeste Gasblasenentwicklung auf. Die Gefäße blieben dann vom 5. März 1906

---

[1]) Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., I. Bd., S. 289 und 327. — Vgl. auch Hueppe, F., Über Assimilation der Kohlensäure durch chlorophyllfreie Organismen. Archiv f. Anatomie u. Physiologie. Physiolog. Abteilg. 1905. S. 33.

bis 1. April 1906 an einem Südwestfenster stehen, ohne daß auch nur eine Spur einer Gasansammlung eintrat.

Ich machte mit demselben Materiale auch Versuche in einer 30 cm langen und 2 cm breiten Eudiometerröhre, beschickte sie so reichlich mit den roten Purpurbakterienhäuten, daß die Röhre bis zu $^2/_3$ damit erfüllt war, und verfuhr im übrigen genau wie vorher. Die Absperrung der Röhre erfolgte durch eine hohe Wasserschichte. Dieser Versuch hatte den Zweck, möglichst viel Purpurbakterien in abgeschlossenem Raume auf Sauerstoffausscheidung zu prüfen. Aber auch hier war das Resultat ein ganz negatives. Selbst nach einem Monat hatte sich auch nicht das kleinste Gasbläschen angesammelt.

Versuche derselben Art in Gährungskölbchen und Absorptionsröhren wurden auch mit Rhodospirillum photometricum und giganteum angestellt, gleichfalls ohne positiven Erfolg. Innerhalb 14 Tagen trat nicht die kleinste Gasblase auf, erst als grüne Algenzellen in großer Zahl entstanden, sammelte sich Gas in geringer Menge bei längerem Stehen an, weil diese Sauerstoff produzierten.

Schließlich möchte ich noch meine Versuche mit Reinkulturen von Rhodobacillus palustris erwähnen, die in Bouillon in Gährungskölbchen gezogen wurden. Die Vermehrung der Bakterien war nach 2 Monaten eine sehr üppige. Es sammelte sich am Grunde des längeren Schenkels des Kölbchens eine 1—2 cm hohe tiefrote Schichte der Bakterie an. Trotzdem war in keinem Kölbchen auch nur die geringste Gasansammlung zu bemerken.

b) Schüttelkulturen.

Wenn der Bakteriologe wissen will, ob eine bestimmte Bakterie Gas entwickelt, so bereitet er sich bekanntlich sogenannte Schüttelkulturen. Es werden Eprouvetten zumeist mit 1 % Traubenzuckeragar ziemlich hoch gefüllt und sodann reichlich mit der Bakterie geimpft, geschüttelt und dann stehen gelassen. Gasbildende Bakterien entwickeln dann gewöhnlich so reichlich Gasblasen, daß das Agar vollständig zerklüftet wird. Man kann sich leicht überzeugen, daß auch Algen unter analogen Umständen sich ähnlich verhalten wie die Bakterien, indem die Algen in entsprechenden festen Nährmedien unter dem Einfluß des Lichtes bei dichten Schüttelkulturen reichlich Sauerstoffblasen entwickeln. In jüngster Zeit hat mein Assistent, Herr Dr. Richter[1]) dasselbe für

[1]) Richter, Oswald, Zur Physiologie der Diatomeen. 1. Mitteilg. Sitzber. d. Kais. Wiener Akademie. Mathem.-naturw. Kl. CXV. 1906. Abt. I. S. 67 d. Sond.-Abdr.

Diatomeenkulturen dargetan. Wenn die Purpurbakterien, so dachte ich, ebenfalls Sauerstoff entwickeln, so könnte die Sauerstoffproduktion vielleicht auch mittelst der Schüttelkulturen veranschaulicht werden. Eprouvetten wurden mit der auf S. 11 angegebenen Peptongelatine bezw. Peptonagar hoch gefüllt und sodann mit Reinkulturen von Rhodobacillus palustris reichlich geeimpft, geschüttelt und sodann an ein Südwestfenster meines Arbeitszimmers, wo die Kulturen auch häufig direktem Sonnenlicht ausgesetzt waren, aufgestellt. Die Versuche wurden in großer Zahl sowohl im Winter als auch im Frühjahr und Sommer gemacht und dabei zeigte sich übereinstimmend: Obwohl die Kolonien in den Eprouvetten zu Hunderten und Tausenden aufkamen, so daß die Eprouvette je nach dem Sauerstoffbedürfnis der verwendeten Bakterien bald mehr oben oder bald mehr unten tiefrot gefärbt erschien, war doch niemals auch nur die geringste Gasblasenentwicklung zu konstatieren, während z. B. danebenhängende Diatomeenkulturen solche reichlich aufwiesen.

c) Versuche mit Engelmanns Bakterienmethode.

Zur Durchführung dieser Versuche bediente ich mich sauerstoffempfindlicher beweglicher Bakterien in Reinkulturen, die ich erhielt, wenn ich Gelatine- oder Agarplatten mit Moldauwasser impfte. Auch Bakterien aus Rindfleischwasser und Spirillen des marinen und süßen Wassers aus verschiedenen Infusen, die sich durch so große Sauerstoffempfindlichkeit auszeichneten, daß sie sich um einzelne grüne Algenzellen oder um einzelne Individuen von Diatomeen oder Euglenen reichlich ansammelten, wurden zu den Versuchen herangezogen. Auf den Objektträger legte ich Stücke von Häuten der Rhodocystis gelatinosa, eines marinen Chromatium und der Lamprocystis roseo-persicina oder anderer rein kultivierter Arten, darauf kam der Wassertropfen mit den sauerstoffempfindlichen Bakterien, dann das Deckglas und schließlich wurde mit Terpentinharz rasch verschlossen. Ich erwähne noch, daß bei Verwendung von marinen Purpurbakterien selbstverständlich marine sauerstoffempfindliche Bakterien verwendet wurden und bei Süßwasser-Purpurbakterien die entsprechenden farblosen Bakterien herangezogen wurden.

Mochte ich im diffusen oder direkten Sonnen- oder Auerlichte beobachten, niemals konnte ich eine durch das Licht hervorgerufene Bewegung und Ansammlung der farblosen Bakterien um die Purpurbakterien herum feststellen. Nicht selten sind gleich nach Beginn des Experimentes Anhäufungen in mehr oder minder beträchtlichem Grade zu sehen, allein bei Abschluß von Licht zeigt sich sofort, daß sie dann auch weiter verbleiben, daher vom Lichte unabhängig sind und auf

eine Chemotaxis, die aber nicht durch Sauerstoff hervorgerufen wird, zurückgeführt werden müssen.

Auch in folgender Weise kann eine Stauerstoffentbindung vorgetäuscht werden: Prüft man eine unbewegliche, nicht rein kultivierte Purpurbakterie, z. B. Rhodocystis gelatinosa, so treten aus der Zoogloeamasse häufig andere bewegliche Purpurbakterien, die sich hier zufällig befanden, heraus und tummeln sich in der Nähe der roten Insel in Scharen herum. Stellt man im Mikroskope auf das rote Hautstück ein, so sammeln sich die Purpurbakterien infolge der Schreckbewegung im Lichtfelde an. Verdunkelt man, so verteilen sie sich wieder, um bei neuer Belichtung sich wieder im Lichtfelde anzusammeln. Sind nun die beweglichen Purpurbakterien den sauerstoffempfindlichen farblosen ähnlich, so kann sehr leicht eine Verwechslung beider eintreten. —

Arbeitet man nicht mit Reinkulturen von Purpurbakterien, so kann es infolge der häufigen Verunreinigung der roten Bakterien mit grünen Organismen ebenfalls zu einer Täuschung kommen, und Winogradsky glaubt, daß Engelmanns positive Resultate auf die Sauerstoffausscheidung der grünen Algen, die stets in der Natur mit den Purpurbakterien vereint leben, zurückzuführen seien. Die Möglichkeit dieser Fehlerquelle ist nicht zu bestreiten, allein aus meinen Darlegungen geht hervor, daß ein positives Ergebnis noch in ganz anderer Weise vorgetäuscht werden kann, falls man nicht mit Reinkulturen experimentiert. Arbeitet man aber mit Reinkulturen von Rhodobakterien, Rhodobacillus palustris, Rhodobacterium capsulatum oder algenfreiem Chromatium, so beobachtet man nie eine durch das Licht hervorgerufene Ansammlung der farblosen Bakterien um die roten herum. Auch dann nicht, wenn man die Purpurbakterien in die Lichtfalle lockt und hier in kolossaler Menge auf relativ kleinem Raum versammelt. Solche ungemein lebenskräftige, ungemein rasch bewegliche Purpurbakterien müßten, wenn sie Sauerstoff ausscheiden würden, unter so überaus günstigen Bedingungen farblose sauerstoffempfindliche Bakterien im Lichte anlocken. Und doch war nichts davon zu sehen.

d) Versuche mit der Leuchtbakterienmethode.

Die Lichtentwicklung der Photobakterien ist an die Gegenwart von freiem Sauerstoff geknüpft. Ohne diesen kein Leuchten. Schon außerordentlich minimale Mengen von Sauerstoff genügen, um die Leuchtbakterien zum Leuchten zu bringen, ja wir können heute die Photobakterien als das feinste und empfindlichste Reagens auf freien Sauerstoff hinstellen. Es war daher ein glücklicher Gedanke Beijerincks,

die Photobakterien auch für Kohlensäure-Assimilationsversuche heranzuziehen. Ich selbst habe die Leuchtbakterienmethode für verschiedene Fragen verwertet,[1]) und habe sie auch jetzt wieder herangezogen, um die eventuelle Sauerstoffausscheidung der Purpurbakterien zu prüfen. — In den Jahren 1905/06 verfügte ich über prachtvolle Kulturen von Rhodocapsa suspensa und Rhodothece pendens. Sie waren in Triester Meerwasser entstanden, dem tote Zostera, wie sie in der Umgebung von Triest vom Meere ausgeworfen wird, zugesetzt war. Die Flüssigkeit war im Herbste in den Kulturgefäßen von unten bis oben schön rot und in einzelnen Gefäßen waren ungemein dichte und fast reine Kulturen von den genannten Purpurbakterien vorhanden. Rhodacapsa und Rhodothece sind unbeweglich und schweben im Wasser, Rhodocapsa bildet sogar eine Art Wasserblüte, indem sie sich in millimeterhoher Schicht im Wasser oben ansammelt.

Glasröhren von 24 cm Länge und 0,7 cm Breite, an einem Ende zugeschmolzen, wurden zur Hälfte mit der Purpurbakterienflüssigkeit und dann sehr stark leuchtender Leuchtbakterienbouillon beschickt. Die Bouillon enthielt 3 Proz. Kochsalz und eine dichte Reinkultur von Bacterium phosphoreum (Cohn) Molisch. Eine derartige Mischung leuchtet für ein dunkel adaptiertes Auge relativ stark. Läßt man nach der Vermischung im Finstern ruhig stehen, so wird die Flüssigkeit nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde infolge der Veratmung des absorbierten Sauerstoffs mit Ausnahme des Meniskus und seiner nächsten Umgebung dunkel. Wären die Purpurbakterien imstande, im Lichte Sauerstoff zu entbinden, so müßten die Photobakterien, nachdem die erloschene Flüssigkeit wieder dem Lichte ausgesetzt worden war, vom neuen aufleuchten. Es sei nun gleich bemerkt, daß ich mit keiner der beiden marinen Purpurbakterien jemals ein Aufleuchten erhielt, weder im Sonnen-, noch im Auer- oder Glühlicht. Als ich dann meine Versuche zu verschiedenen Zeiten des Jahres mit prachtvollen Kulturen eines marinen Chromatiums, ferner mit Reinkulturen von Rhodobacillus palustris und Rhodobacterium capsulatum wiederholte, ergaben sich dieselben negativen Resultate. Das verwendete Rhodobakterienmaterial war das denkbar günstigste, die Chromatien waren außerordentlich beweglich und alle Kulturen waren so dicht mit Bakterien erfüllt, daß selbst schmale mit den Kulturen beschickte Proberöhrchen intensiv rot gefärbt waren.

[1]) Molisch, H., Über Kohlensäure-Assimilationsversuche mittelst der Leuchtbakterienmethode. Botan. Zeitg. 1904. I. Abt., S. 1.

[2]) Molisch, H., l. c. Vgl. ferner Molisch, H., Leuchtende Pflanzen. Jena 1904. S. 60.

Wenn die Versuche beweisend sein sollen, muß man sich stets durch Kontrollversuche überzeugen, ob das Leuchtbakterienmaterial wirklich prompt reagiert. Waren meine Versuche negativ, so konnte ich mich dann durch Zusatz von kleinen lebenden Stückchen von Fucus virsoides oder Enteromorpha sp. überzeugen, daß diese Algen nach ganz kurzer, nur einige Sekunden oder 1/4 Minute währender Beleuchtung die Bouillon zum Aufleuchten brachten.

Wir haben demnach die Frage der Sauerstoffausscheidung der Rhodobakterien im Lichte mittelst der Gasblasenmethode, in Absorptionsröhren, mittelst der Schüttelkulturen, mittelst der Bakterienmethode Engelmanns und endlich mit der Leuchtbakterienmethode geprüft und alle diese so verschiedenen Methoden ergaben ein völlig übereinstimmendes Resultat, nämlich: daß die Purpurbakterien — entgegen der Behauptung Engelmanns, welche bisher fast allgemein als richtig angenommen wurde — nicht imstande sind, Kohlensäure unter gleichzeitiger Sauerstoffentbindung[1]) zu assimilieren und daß der Farbstoff nicht dieselbe Rolle wie das Chlorophyll spielt. In Übereinstimmung mit diesen meinen Versuchsergebnissen steht

---

[1]) Ob aber die Purpurbakterien unter gewissen Verhältnissen nicht doch Kohlensäure, ohne gleichzeitig dabei Sauerstoff zu entbinden, zu assimilieren vermögen, muß genauer untersucht werden, da in letzter Zeit farblose Bakterien gefunden worden sind, die diese Fähigkeit besitzen. ich erinnere an die Angaben von Beijerinck, der zwei Bakterien im Grabenwasser fand, die im Finstern Kohlensäure verarbeiten. Die eine, Thiobacillus thioparus gewinnt die nötige Energie zu dieser Reduktion durch die Oxydation von Schwefelwasserstoff zu Schwefel oder von $Na_2S_2O_3$ oder $Na_2S_2O_6$ zu Na_2SO_4 und S, die andere, Thiobacillus denitrificans, verschafft sich die Energie durch die Oxydation von Schwefel und Reduktion von Nitraten zu freiem Stickstoff bei Abschluß von freiem Sauerstoff nach der Formel:

$$6\,KNO_3 + 5\,S + 2\,CaCO_3 = 3\,K_2SO_4 + 2\,CaSO_4 + 2\,CO_2 + 3\,N.$$

Beijerinck, M. W., Phénomènes de réduction produits par les microbes. Arch. Neerl. d. scienc. exactes et natur. Ser. II. T. IX. 1904. S. 131. Ref. im Bot. Zentralbl. 1904. Bd. XCVI. S. 298. Ich erinnere ferner an die interessanten Beobachtungen Kaserers und Niklewskis, die gleichfalls farblose Bakterien entdeckten, die Kohlensäure ohne Sauerstoffentwicklung assimilieren können. H. Kaserer, Über die Oxydation des Wasserstoffs und des Methans durch Mikroorganismen. Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Österreich. Bd. VIII. 1905. S. 789. Ref. im Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XV. S. 573. Derselbe. Die Oxydation des Wasserstoffs durch Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd XVI. 1906. S. 681. Niklewski, M., Ein Beitrag zur Kenntnis Wasserstoffoxydierender Mikroorganismen. Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie. Classe des scienc. math. et. nat. 1906, S. 911.

auch die Tatsache, daß die Rhodobakterien zu ihrer Ernährung unbedingt organische Nahrung benötigen.

Indem ich mir vorbehalte, auf die Ernährung der Purpurbakterien noch in einem speziellen Kapitel einzugehen, möchte ich hier einstweilen nur folgendes erwähnen.

Wenn man Reinkulturen von Purpurbakterien in anorganische Lösungen, in Meerwasser, in Brunnen- oder Leitungswasser bringt, so findet im Lichte keine Entwicklung statt. Auch nicht, wenn die Kulturen in schmalen hohen Gefäßen gehalten werden, wo der Sauerstoffzutritt erschwert ist. Auch Spuren von organischen Substanzen genügen nicht. Das Prager Moldauleitungswasser enthält relativ viel organische Substanzen und doch gedeihen sie darin ohne weiteren Zusatz nicht. Ich versuchte Reinkulturen von Purpurbakterien (Rhodobacillus palustris) auch in Agar zu ziehen, welches durch Diluierung im Wasser seiner organischen Verunreinigungen beraubt worden war. Zu diesem Zwecke wurde Agar zunächst im laufenden Leitungswasser 3 Tage gewässert und dann noch durch 2 Tage mit destilliertem Wasser behandelt. In solchem Agar, versetzt mit den für Purpurbakterien notwendigen Nährsalzen, ist das Wachstum und die Entwicklung sowohl im Lichte als auch im Finstern äußerst spärlich. Auf Kosten der noch vorhandenen minimalen Spuren organischer Verunreinigungen erfolgt im Anfang eine sehr schwache, eben noch merkbare Entwicklung, die aber alsbald völlig stockt. In Kontrollversuchen mit 1 Proz. Peptonzusatz ist die Entwicklung eine ungemein üppige.

Würden die Purpurbakterien imstande sein, Kohlensäure zu assimilieren, so wäre ein anderes Resultat zu erwarten gewesen, sie müßten sich ebenso wie Diatomeen und andere Algen auch ohne Zusatz organischer Substanzen in rein mineralischen Lösungen unter Verwertung der Kohlensäure reichlich entwickeln. So wird es auch verständlich, warum ich bei allen meinen Laboratoriumskulturen die Purpurbakterien stets in an organischen Substanzen reichen Flüssigkeiten auftreten und sich üppig entwickeln sah: im Heuwasser, im Wasser mit faulender Zostera, verwesenden Algen, Regenwürmern, Fischen, Krabben, Schnecken, Knochen, Gelatine usw.

Über weitere Tatsachen, die gegen die Entbindung von Sauerstoff durch die Purpurbakterien im Lichte sprechen, wolle man das auf S. 53—54 Gesagte vergleichen.

IV.

Die Purpurbakterien in ihrer Beziehung zum Sauerstoff.

Schon aus den Untersuchungen von Cohn, Winogradsky, Engelmann und Beijerinck geht übereinstimmend hervor, daß die schwefelkörnchenführenden Purpurbakterien eine niedere Sauerstoffspannung lieben und dies kann ich auch für alle von mir geprüften schwefelkörnchenfreien Purpurbakterien behaupten.

Sehr lehrreich sind die einschlägigen Versuche Beijerincks in seiner Abhandlung über Atmungsfiguren.[1] Er versteht unter Atmungsfiguren die Anordnung beweglicher Mikroorganismen unter dem Einfluß des Sauerstoffs und der übrigen Nährstoffe bei bestimmten Versuchsbedingungen. Um derartige Figuren zu erzielen, bringt er u. a. einen Bakterientropfen unter ein Deckglas, das an der einen Seite durch einen Platindraht so gestützt ist, daß unter dem Deckglas ein keilförmiger Raum entsteht, der von der Bakterienflüssigkeit etwa zur Hälfte erfüllt ist. Sind die Bakterien sauerstoffempfindlich, sehr beweglich und in großer Menge vorhanden, so sammeln sie sich je nach ihrem Sauerstoffbedürfnis in ganz bestimmter Entfernung vom Meniskus und Rande an und bilden dann eine schon dem freien Auge sichtbare Figur, die Atmungsfigur. Beijerinck unterscheidet 3 Haupttypen der Figuren: den Aërobientypus, den Spirillentypus, den Anaërobientypus und zwei Nebentypen als Vibrionen- und Monadentypus (S. 839). Der genannte Forscher arbeitete auch mit Rhodobakterien und zwar mit Chromatium Okenii und einer kleineren Form von Ch. Warmingii. Sie zeigten entweder den Anaërobientypus, d. h. sie suchten im Präparate die geringste Sauerstoffspannung auf und erzeugten daher eine zentrale Ansammlung. Oder sie zeigten Spirillentypus, d. h. sie sammelten sich in einer scharfgezogenen Linie an, welche sich in einiger Entfernung vom Rande parallel

[1] Beijerinck, M. W., Über Atmungsfiguren usw. l. c. S. 827.

zu diesem bildet. Die Erscheinungen sind jedoch nicht immer so einfach. sondern werden durch verschiedene Umstände, wie mehr oder minder große Mengen von Schwefelwasserstoff und durch verschiedene Sauerstoffstimmung der Individuen derselben Art, verwickelt.

Ich experimentierte vornehmlich mit Rhodospirillum giganteum, R. medium, mit verschiedenen anderen Süßwasser- und Meeresspirillen und mit Chromatien und fand, daß alle eine gewisse niedere Sauerstoffspannung lieben und je nach den Versuchsbedingungen bald dem Spirillentypus, bald dem Anaërobientypus sich fügen.

Rhodospirillum giganteum aus Heuwasser gibt unter einem quadratischen Deckglas, das von zwei feinen Glasfäden (geschlossenen Capillarröhrchen) parallel zum Objektträger getragen wird, eine wie mit dem Lineal gezogene quadratische Atmungsfigur, deren Seiten etwa 2—3 Millimeter vom Deckglasrande abstehen. Je höher die Wasserschichte, desto leichter strömt Sauerstoff ein und desto weiter nach innen rücken die Quadratseiten, desto kleiner wird das Quadrat. Aus dem Umstand, daß das Quadrat bis zum Zentrum mit Bakterien erfüllt sein kann, geht hervor, daß nicht alle Bakterien auf die gleiche Sauerstoffspannung gestimmt sind und daß sich daher hier Spirillen- und Anaërobientypus vermischt vorfinden. Gewöhnlich erscheint der Rand des Quadrates am meisten rot, hier erfolgt die dichteste Ansammlung, weil doch die Mehrzahl der Bakterien den Spirillentypus repräsentiert. Da bei ein und demselben Individuum ein Wechsel der Sauerstoffstimmung erfolgen kann, so findet zweifellos nach einiger Zeit ein gegenseitiger Austausch zwischen den zentralen und peripheren Individuen statt. Dauert der Versuch mehrere Stunden oder 1—2 Tage, so kommen die Bakterien vielfach zur Ruhe, sie bilden Haufen oder Knäuel, dabei kann aber das Quadrat noch erhalten bleiben. Die Figur kann jedoch, da sich infolge der Atmung, des Nährstoffverbrauchs und anderer unbekannter Faktoren die Verhältnisse ändern, Wandlungen erleiden, indem sie unregelmäßig wird oder indem sich der größte Teil der Bakterien im Zentrum zu einem roten rundlichen Fleck ansammelt. Am Anfang des Versuchs tritt die Ansammlung aber fast immer in derselben Weise, wie sie geschildert wurde, ein. Dauert der Versuch lange, ein bis mehrere Tage, so werden Rhodospirillum giganteum und andere Purpurbakterien auf noch niedrigere Sauerstoffmengen gestimmt. Während sie am Anfang des Versuchs in der Nähe des Randes waren, ziehen sie sich später auf einen zentralen Haufen zurück.

Man darf jedoch diese Befunde, wie sie sich unter Deckglas einstellen, nicht ohne weiteres generalisieren. Denn wenn man nicht unter

Deckglas experimentiert, sondern die Bakterien in eine Röhre bringt und diese vertikal stellt, so sammeln sie sich schon nach kurzer Zeit, nach $^1/_2$ Stunde oder länger der Hauptmasse nach ganz unten an, hier einen roten Bodensatz bildend. Der Rest tummelt sich im übrigen Teil der Röhre bis in die Nähe des Meniskus hinauf. Würden sie ihrem Sauerstoffbedürfnis allein folgen, so sollte man erwarten, daß sie in einer gewissen, nicht allzuweiten Entfernung vom Meniskus das Maximum ihrer Ansammlung aufweisen. Dies ist aber nicht der Fall, es muß also noch ein anderer Faktor eingreifen, der sie ganz in die Tiefe bringt und dieser Faktor ist meiner Meinung nach die Schwerkraft. Obwohl die beweglichen Purpurbakterien entgegen der Schwere bequem Bewegungen ausführen können, so scheinen sie doch alsbald zu ermüden und folgen dann dem Zuge der Schwere. Für das Gelingen des Versuchs ist es gleichgültig, ob man eine kurze, etwa 1 cm, oder eine 100 cm lange Röhre nimmt. Es ist auch gleichgültig, ob man eine breite Röhre, etwa eine gewöhnliche Eprouvette oder eine nur 1 mm breite Röhre verwendet. Ich vermag nicht zu entscheiden, ob die Bakterien hierbei infolge einer positiven Geotaxis nach abwärts schwimmen, also aktiv, oder ob sie rein passiv durch ihr Eigengewicht nach unten sinken. Man könnte auf den Gedanken kommen, daß die Bakterien in vertikal stehenden Röhren sich vielleicht deshalb in der Tiefe aufhalten, weil in Röhren der Sauerstoff leichter in die Flüssigkeit diffundieren kann als unter Deckglas und daß demnach in der Röhre sich nur in tieferen Regionen die nötige Sauerstoffverdünnung vorfindet, die den Purpurbakterien angenehm ist. Allein ein einfacher Versuch lehrt, daß diese Annahme nicht richtig sein kann, denn wenn man die Röhre mit Bakterienflüssigkeit füllt und anstatt vertikal horizontal stellt — die Röhre muß so dünn gewählt werden, daß die Flüssigkeit nicht herausfließt, sondern kapillar eben noch festgehalten wird —, so sammeln sich die Bakterien nicht am verschlossenen Ende der Röhre, sondern vorzugsweise in der Nähe des offenen Endes an und zwar von hier in abnehmender Menge gegen das verschlossene Ende zu. Dabei bleibt die untere Seite der horizontal liegenden Röhre auch jetzt im allgemeinen infolge der Schwerkraft begünstigt.

Dieser Versuch lehrt außerdem, daß die Sauerstoffstimmung individuell sehr verschieden sein muß, da die Bakterien sich an so ungleich entfernten Punkten vom Meniskus verteilen. Sehr gute Dienste leisteten mir beim Studium der Aërotaxis der Purpurbakterien und anderer Mikroorganismen nicht zu dünne plattgedrückte Kapillaren von etwa 3—7 cm Länge, 2 mm äußerer Breite und $^3/_4$ mm äußerer Höhe. Sie

eignen sich für die mikroskopische Beobachtung viel besser als solche mit kreisrundem Querschnitt. Füllt man eine solche Kapillare mit Rhodospirillum giganteum, so bleiben die Bakterien in dem horizontal gelegten Röhrchen fast längs der ganzen Röhre verteilt, nur die beiden Menisken werden bis auf etwa 2 mm gemieden. Die Grenzzone ist ziemlich scharf begrenzt und schon nach 5—10 Minuten mit freiem Auge zu sehen. An den Grenzzonen schwimmen die Bakterien am dichtesten herum, so daß die Bakterien sich hier auch mikroskopisch als roter Gürtel kundgeben. Zwischen den beiden Gürteln erscheint die Flüssigkeit reichlich und gleichmäßig von Bakterien erfüllt.

Die beweglichen Purpurbakterien lassen sich wegen ihrer großen Sauerstoffempfindlichkeit in ausgezeichneter Weise verwenden zum Nachweis der Sauerstoffentbindung durch kohlensäureassimilierende Zellen. Liegt unter Deckglas in einem dichten Rhodospirillum giganteum-Feld eine einzige Algenzelle, z. B. Pleurococcus, so weichen die Bakterien im Lichte bis auf eine gewisse Entfernung der grünen Zelle aus, da sie den Sauerstoff in der von der Alge dargebotenen Konzentration nicht vertragen. Es bildet sich ein farbloser Hof um die Zelle, der aus der roten Bakteriengesellschaft hell hervorleuchtet. Bedeckt man nun das Präparat behufs Abhaltung des Lichtes mit einem Dunkelsturz, so hört die Alge auf, Sauerstoff zu entbinden, es verschwindet, indem die Purpurbakterien bis unmittelbar an die Alge heranschwimmen, innerhalb $^1/_2$ Minute der Hof, um bei neuer Beleuchtung innerhalb derselben Zeit wieder zu erscheinen.

Sicherlich scheidet die einzelne Algenzelle im Lichte nur äußerst geringe Spuren von Sauerstoff aus und diese sind den Purpurbakterien schon zu viel. Wir dürfen daher mit Recht die Purpurbakterien — vielleicht abgesehen von den Leuchtbakterien — zu den feinsten Indikatoren auf freien Sauerstoff ansehen. W e n n d e m a b e r s o i s t u n d d i e P u r p u r b a k t e r i e n n a c h E n g e l m a n n i m L i c h t e s e l b s t S a u e r s t o f f e r z e u g e n s o l l e n, s o m ü s s e n s i e s i c h i m L i c h t e e i g e n t l i c h i m m e r z e r s t r e u e n u n d s i c h g e g e n s e i t i g f l i e h e n. D a v o n i s t a b e r n i c h t s z u b e m e r k e n. Wenn wir ein Bakterienfeld, das so dicht ist, daß es dem freien Auge als ein tiefrotes Feld erscheint, beleuchten, so bleiben die Bakterien trotzdem beisammen und wenn wir sie in die Lichtfalle locken, so werden sie zu Millionen auf einem Lichtpunkte versammelt und hier wie die Körner in einem Sandhügel angehäuft. Würden die Rhodobakterien im Lichte Sauerstoff entbinden, so wären diese Anhäufungen im Lichte nicht verständlich. I c h e r b l i c k e d a h e r i n d e m e r w ä h n t e n V e r h a l t e n d e r P u r p u r b a k t e r i e n e i n e n e u e

Stütze für meine auf Seite 41—48 begründete Ansicht, daß die Rhodobakterien im Lichte Sauerstoff nicht zu entbinden vermögen.

Daß die Purpurbakterien im allgemeinen Sauerstoff von der gewöhnlichen Spannung fliehen, darüber kann wohl kein Zweifel mehr bestehen, es bleibt aber noch die wichtige Frage zu beantworten, ob sie überhaupt freien Sauerstoff benötigen und ob sie nicht vielleicht auch ohne freien Sauerstoff leben, wachsen und sich entwickeln können.

Da man bisher die Purpurbakterien nicht rein zu kultivieren vermochte, so harrte diese Frage noch ihrer Lösung und die darüber aufgestellten Ansichten divergieren noch immer. Aus dem Umstande, daß in schwefelwasserstoffreichem Wasser kein freier Sauerstoff sein kann und daß trotzdem Beggiatoen und Rhodobakterien in solchen Wässern vorkommen und sich entwickeln, hat Cohn[1]) den Schluß gezogen, daß die genannten Bakterien sich auch in sauerstofffreiem Wasser entwickeln und vermehren können.

Eine wesentlich andere Ansicht hat Winogradsky auf Grund seiner Beobachtungen gewonnen. Er hat gesehen, daß die Purpurbakterien im Kulturtropfen unterm Deckglas sich ähnlich wie anaërobiotische Bakterien benahmen und sich stets im Zentrum des Tropfens aufhielten und ferner hat er gefunden, daß die roten Bakterien in seinen Deckglaskulturen stets mit grünen Organismen zusammenlebten und daß diese sich angeblich als notwendig erwiesen, indem sie den Purpurbakterien die für ihren Bedarf zwar äußerst geringen, aber dennoch unentbehrlichen Sauerstoffmengen lieferten. „Die roten Schwefelbakterien bilden, wie aus dem Gesagten hervorgeht, einen sehr merkwürdigen Fall von Organismen, denen der Sauerstoff unentbehrlich ist, die sich aber trotzdem fast wie anaërobiotische Wesen verhalten, da sie nur äußerst geringe Sauerstoffmengen gut ertragen können. — Doch kommen auch in bezug auf den Sauerstoffbedarf verschiedene Gradationen zwischen ihnen vor. Es gibt auch Formen, die in Massenkulturen sich nahe an der Oberfläche des Wassers wie die Beggiatoen ansammeln und wahrscheinlich in ähnlicher Weise wie diese sich gegen Sauerstoff verhalten.“[2])

Meine mit verschiedenen Purpurbakterien durchgeführten Versuche haben gegen Winogradsky insofern entschieden, als manche Rhodobakterien ohne jede Spur von freiem Sauerstoff sich gut entwickeln können.

---

[1]) Cohn, F., Untersuchungen über Bakterien l. c. S. 177.

[2]) Winogradsky, S., Beiträge usw. l. c. S. 52.

Die einfachste und exakteste Versuchsweise, die ich für die Kultur anaërober Mikroorganismen überhaupt empfehlen möchte, besteht in der Anwendung von luftdicht abgeschlossenen Deckglaskulturen, wie ich sie bereis auf S. 12—14 des näheren geschildert habe.

Am 24. Februar 1906 wurde Peptonagar — über die Zusammensetzung desselben siehe S. 11—12 — mit einer Reinkultur von Rhodospirillum photometricum in einer Eprouvette geimpft und davon in vier andere Proberöhrchen überimpft, um eine genügende Verdünnung der Keime zu erzielen. Aus den beiden letzten Eprouvetten wurde auf sterilisierte Objektträger von 9 × 6 cm das Agar rasch ausgegossen, mit einem sterilisierten Deckglas von 4 × 3 cm bedeckt und mit einem dicken Terpentinharzrand rasch verschlossen. Die Kulturen stellte ich an einem Nordfenster im diffusen Lichte unter einer Glocke bei gewöhnlicher Zimmertemperatur auf. Schon nach 14 Tagen traten rötliche Pünktchen auf, die sich nach einem Monat zu deutlich roten Punkten von etwa $^1/_2$ mm Durchmesser vergrößerten. Unterm Mikroskop erwiesen sich die Punkte als reine Kolonien der genannten Bakterie. Fig. 5 auf Tafel I stellt eine solche Kolonie dar.

Wenn in dem Verschluß des Deckglases absichtlich ein Durchlaß für Luft (2—3 mm) gelassen wird, so treten in der näheren Umgebung der Durchlaßstelle keine Kolonien auf. Erst in der weiteren Umgebung (1—2 cm) tauchen rote Punkte auf.

In derselben Weise gelangte ich in sauerstoffreiem Raume auch zu reinen Kolonien von Rhodonostoc capsulatum und einigen anderen nicht näher beschriebenen Rhodobakterien.

Man kann meine Deckglaskulturen geradezu benutzen, um sich verschiedene Rhodobakterien, die sich in verschiedenen Infusen nur in vereinzelten, leicht übersehbaren Exemplaren vorfinden, in reinen Kolonien zu erhalten und so neue Arten aufzufinden.

Es ist auch höchst merkwürdig, wie außerordentlich lange sich Chromatien unter Deckglas ohne freien Sauerstoff lebensfrisch und in Bewegung erhalten können. Hierfür ein Beispiel. Am 1. Mai 1906 verschloß ich einen Tropfen mit vielen marinen Chromatien, die nur noch mit einer anderen Purpurbakterie vermischt waren, unter Deckglas mit Terpentinharz und am 13. März 1907 zeigte sich bei mikroskopischer Beobachtung, daß sich die Chromatien immer noch lebhaft herumtummelten, die Schreckbewegung sehr schön zeigten und sich rasch in der Lichtfalle einfangen ließen. Viele führten reichlich Schwefelkörnchen.

Man könnte einwenden, daß der Terpentinharzrahmen vielleicht

doch keinen luftdichten Verschluß darbiete und daß durch Diffusion der Luft durch das Harz hindurch möglicherweise kleine Sauerstoffmengen in das Präparat gelangen. Um diesen Einwand zu prüfen, habe ich dasselbe Präparat am 14. März 1907 in eine durch alkalische Pyrogallussäurelösung sauerstoffreie und mit Paraffin luftdicht verschlossene Proberöhre gebracht, es darin 5 Tage im Tageslichte belassen und dann unmittelbar nach dem Herausnehmen mikroskopisch beobachtet. Die Bakterien waren immer noch in lebhafter Bewegung, genau so, wie vorher außerhalb der Eprouvette, obwohl doch unter den erwähnten Versuchsbedingungen nach 5 Tagen schwerlich freier Sauerstoff zu den Bakterien gelangt sein konnte.

Da es sich in diesen Fällen um Kulturen handelt, die sicher frei von grünen Zellen waren, so ist ersichtlich, daß die grünen Organismen, die so häufig in der Natur mit den Purpurbakterien vermengt vorkommen, nicht, wie Winogradsky geglaubt hat, für das Leben der roten Bakterien allgemein notwendig sind: gewisse Rhodobakterien bedürfen weder grüner Zellen als Sauerstoffquelle, noch vermögen sie im Lichte selbst Sauerstoff zu entbinden, sondern können sicher eine ganz anaërobe Lebensweise führen.

Mit der Vorliebe, der freien Atmosphäre möglichst oder bis zu einem gewissen Grade entrückt zu vegetieren, hängt auch zusammen, daß die Purpurbakterien in gewöhnlichen Plattenkulturen meist gar nicht gedeihen. Nur wenn die Gelatine- oder Agarschichten eine gewisse Tiefe aufweisen, kommen die Rhodobakterien in den tieferen Schichten auf. —

Ist das Sauerstoffbedürfnis bei den Purpurbakterien im allgemeinen zwar ein geringes, so zeigen sie in diesem Punkte doch beträchtliche Unterschiede. Die meisten gedeihen an der atmosphärischen Luft, z. B. in Strichkulturen überhaupt nicht und wachsen nur, wenn sie dem Sauerstoff ganz oder stark entzogen sind, einzelne können aber auch, der freien Atmosphäre ausgesetzt, gut gedeihen. Zwischen diesen beiden Extremen kommen mannigfache Übergänge vor. Im allgemeinen sind sie mehr minder mikroaërophil. Beispiele für Purpurbakterien, die auch gewöhnliche Sauerstoffspannung vertragen können, sind die von mir in Reinkultur gewonnenen beiden Arten Rhodobacillus palustris und Rhodobacterium capsulatum. Doch sind auch diese mikroaërophil, denn in einer Gelatinepeptondextrin-Schüttelkultur entwickeln sie sich doch nur 2—4 mm unter dem Meniskus am reichlichsten.

Bei vollständigem Abschluß des Sauerstoffs unterbleibt ihre Entwicklung, sie unterscheiden sich daher in diesem Punkte von gewissen Chromatien. —

Die Purpurbakterien unterscheiden sich von den gewöhnlichen chromogenen Bakterien dadurch in auffallender Weise, daß sie ihren Farbstoff auch gewöhnlich nur bei geringerer Sauerstoffzufuhr entwickeln. Während z. B. der Bacillus prodigiosus nur im Kontakt mit der Luft seinen Farbstoff bildet, in den tieferen Regionen des Nährbodens nicht, tritt bei den Purpurbakterien gewöhnlich das Umgekehrte ein. So erzeugt Rhodobacillus palustris an der Luft wenig oder anfangs gar keinen Farbstoff, bei geringerer Sauerstoffzufuhr aber reichlich. Aus diesen Beobachtungen möchte man schließen, daß bei der Farbstoffbildung der Sauerstoff von maßgebender Bedeutung ist, allein eine Beobachtung von Migula[1]) an Rhodospirillum rubrum (Esmarch) Molisch mahnt zur Vorsicht. Er sagt: „Die eigentümliche Erscheinung, daß der Farbstoff sich gar nicht oder nur mangelhaft an der Oberfläche der Nährsubstrate bildet, ist nicht ausschließlich aus der Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes zu erklären. Nach meinen Versuchen gedeiht Spirillum rubrum auf schrägem Agar auch in Wasserstoffatmosphäre vorzüglich, bildet aber ebenfalls keinen Farbstoff.“

---

[1]) Migula, W., l. c. S. 1027.

V.

Die Chemotaxis der Purpurbakterien.

Daß die Purpurbakterien die gewöhnliche Sauerstoffspannung fliehen und niedrige suchen, wurde im vorigen Abschnitt ausführlich dargelegt. Ob auch andere Stoffe die Rhodobakterien beeinflussen, wurde bisher nur selten untersucht.

So hat Miyoshi[1]) eine Reihe von chemotaktischen Experimenten mit Chromatium Weissii ausgeführt, aus denen hervorgeht, daß die genannte Purpurbakterie durch verdünnte Lösungen von Schwefelwasserstoff, Ammoniumtartrat, Kaliumnitrat, Ammoniumphosphat und andern stark angelockt, dagegen durch höhere Konzentrationen dieser Stoffe sowie durch die spezifischen Eigenschaften gewisser anderer Substanzen (0,5 Proz. Äpfelsäure usw.) abgestoßen wird.

Miyoshi nimmt auch an, daß Chromatium Weissii ähnlich wie gewisse Infusorien auf Kontaktreize reagiert, da er sehr oft ein Herumtummeln von Individuen um irgend einen festen Gegenstand wie Gips- oder Schwefelkriställchen oder dem Detritus organischer Körper beobachten konnte. — Ferner hat Kniep[2]) mit einer farblosen Bakterie und mit Rhodospirillum rubrum (Esmarch) Molisch = Spirillum rubrum Esmarch zu zeigen versucht, daß durch Variation äußerer Bedingungen die chemotaktische Reaktion auf verschiedene Substanzen hervorgerufen oder verhindert werden kann. Diese rote Bakterie ist sowohl für Chlorkalium als auch für Chlorammonium empfindlich. Wurde sie aber in eine Lösung gebracht, welche $^1/_{100}$ Mol Chlorkalium enthielt, während sich in den Kapillaren außer $^1/_{100}$ Mol Chlorkalium noch $^1/_{100}$ Mol Chlorammonium befand, so trat keine Anlockung ein.

[1]) Miyoshi, M., l. c. S. 160.

[2]) Kniep, H., Untersuchungen über die Chemotaxis von Bakterien. Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XLIII Heft 2, 1906, S. 215—270.

Demnach kann Chlorkalium die chemotaktische Reaktion auf Chlorammonium verhindern und auch das Umgekehrte kann eintreten. Analog war das Verhalten zu schwefelsaurem Kali und schwefelsaurem Ammonium.

Schon am Beginne meiner Beschäftigung mit den Purpurbakterien sah ich oft, daß sie sich um Nahrungsbissen in kolossalen Mengen ansammeln und hierdurch wurde wahrscheinlich, daß sie auch auf andere Stoffe als Sauerstoff reagieren. Die folgenden Versuche haben diese Vermutung vollauf bestätigt.

Meine Versuchsmethode war im wesentlichen fast dieselbe wie die von Pfeffer[2]) in seiner bekannten grundlegenden Arbeit angewendete, doch war sie der Natur der Purpurbakterien entsprechend in gewissen Fällen modifiziert. Kleine, an einem Ende zugeschmolzene Glaskapillaren von 5—10 mm Länge und $^1/_4$—$^1/_2$ mm Breite wurden durch mehrmaliges Hin- und Herziehen in der blauen Flamme des Bunsenbrenners erwärmt, um die Luft auszudehnen und zum teilweisen Austritt aus der Kapillare zu bringen. Die noch warme Kapillare wurde rasch mit ihrer Öffnung in die betreffenden Lösungen getaucht, worauf bei der eintretenden Abkühlung die Flüssigkeit einen beträchtlichen Teil des Röhrchens erfüllte. Der übrige Teil enthielt Luft. Erst nachdem die Kapillare wieder die gewöhnliche Lufttemperatur angenommen hatte, wurde sie mit ihrem Mund in den Bakterientropfen gelegt und mit einem Deckglas bedeckt. Die teilweise Füllung der Röhrchen kann natürlich auch in der von Pfeffer vorgenommenen Weise, nämlich unter dem Rezipienten der Luftpumpe vorgenommen werden. Zuweilen verschloß ich das Präparat rasch mit Terpentinharz, um Strömungen, die durch Verdampfung entstehen, zu verhindern und um aërotaktische Bewegungen möglichst auszuschließen. Den Verschluß konnte ich mir bei Purpurbakterien erlauben, weil sie ja im Gegensatz zu den meisten farblosen Bakterien auch in völlig sauerstoffreiem Raume ihre Bewegungen im Lichte fortsetzen. Um zu eruieren, ob nicht vielleicht die im rückwärtigen Teile des Röhrchens eingeschlossene Luft eine Anlockung veranlaßt, machte ich auch Parallelversuche mit beiderseits offenen Röhrchen. Auch mit solchen gelangen die Versuche ganz vorzüglich, ja oft noch viel besser als mit einseitig verschlossenen Röhrchen, so daß darin jedenfalls keine eigentliche Fehlerquelle erblickt werden darf, wenn auch zugegeben werden muß, daß hierdurch der rascheren Diffusion des zu prüfenden Stoffes Vorschub geleistet wird. Allein dieser Nach-

---

[1]) Pfeffer, W., Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Untersuch. aus d. Tübinger Institut. Bd. 1 Heft 3 (1884), S. 363.

teil wird wieder kompensiert durch den Umstand, daß die Röhre ganz mit der Flüssigkeit erfüllt ist und die mittleren Flüssigkeitspartien lange Zeit anlockend wirken. Unter Berücksichtigung aller jener Fehlerquellen und Störungen, auf welche Pfeffer aufmerksam gemacht hat, erhielt ich bei meinen Versuchen die im folgenden näher ausgeführten Resultate. Ich arbeitete mit Rhodospirillum giganteum, R. photometricum, mit marinen Rhodospirillen und mit einem Chromatium aus Triester Meerwasser.

Zunächst sei hervorgehoben, daß verschiedene Arten der Purpurbakterien sich in chemotaktischer Beziehung verschieden verhalten. So wird z. B. Rhodospirillum giganteum in hohem Grade durch Kohlensäure, Salzsäure, Dextrin, Rohrzucker und Pepton angelockt, nicht aber Chromatium aus Triester Meerwasser.

Sehr verdünnte Salzsäure vermag Rhodospirillum giganteum anzulocken, nicht aber Rhodospirillum photometricum oder Chromatium.

Schwefelwasserstoff lockt Rhodospirillum giganteum und andere kleine Rhodospirillen aus Heuinfus an, nicht aber das genannte Chromatium.

Durch Heuinfus wird Rhodospirillum giganteum chemotaktisch beeinflußt, nicht aber Chromatium. Ich habe, abgesehen von Sauerstoff, vorläufig keine Substanz kennen gelernt, die chemotaktisch auf Chromatium stark wirkt. Dennoch zweifle ich nicht, daß mein Chromatium auch noch durch andere Stoffe bedeutend chemotaktisch gereizt werden dürfte, da es sich um Nahrungsbrocken zuweilen in außerordentlicher Weise ansammelt. Daß Chromatium Weissii gegenüber verschiedenen Substanzen hochgradig chemotaktisch sein kann, wurde von Miyoshi[1]) gezeigt und schon früher erwähnt. Wie nach anderen Erfahrungen zu vermuten war, muß die lockende Substanz in einer gewissen Konzentration geboten werden, weil sich bei zu großer Verdünnung Indifferenz und bei zu starker Konzentration Abstoßung oder tötende Wirkung einstellt.

Der Umstand, daß viele Purpurbakterien durch Kohlensäure gelockt werden, scheint für Engelmanns Idee zu sprechen, daß sie CO_2 assimilieren. Allein auf S. 41—48 wurde bewiesen, daß die Rhodobakterien Sauerstoff aus CO_2 nicht frei zu machen imstande sind, und daß sie zu ihrer Ernährung organischer Substanzen bedürfen. Auch wissen wir, daß nicht alle Substanzen, die positive Chemotaxis hervorrufen, für den betreffenden Organismus auch nützlich sein müssen, denn es können sogar auch tötende Stoffe anlockend wirken.

---

[1]) Miyoshi, M., l. c. S. 160.

Pfeffer[1]) hat gezeigt, daß farblose Bakterien im Gegensatz zu den Samenfäden der Moose und Farne, wo nur ein Stoff (oder sehr wenige) Chemotaxis hervorruft, durch sehr verschiedene Stoffe gereizt werden können. Nach meinen Untersuchungen gilt dasselbe auch für verschiedene Rhodobakterien.

Versuche mit Rhodospirillum giganteum.

Kohlensäure. Die Kapillare enthält destilliertes Wasser mit beträchtlichen Mengen von reiner Kohlensäure. Der Tropfen war in diesen wie in allen folgenden Versuchen sehr dicht mit Bakterien erfüllt. Schon nach einer Minute ist das Einschlüpfen in die Kapillare so reichlich erfolgt, daß die Ansammlung unterm Mikroskop deutlich erscheint. Nach mehreren Minuten bilden die Bakterien knapp hinter dem Kapillarmund eine tiefrote Zone, innerhalb welcher es von Bakterien wimmelt. Die Zone wird immer dichter und länger, so daß sie schon dem freien Auge an ihrer roten Farbe kenntlich wird. Nach einer Stunde ist die ganze Flüssigkeitssäule bis knapp zur Luftblase mit Bakterien dicht erfüllt und diese Ansammlung kann, wenn die Verdampfung durch Einstellen im feuchten Raume oder durch Terpentinharzverschluß verhindert wird, mehrere Stunden andauern. Hierauf beginnen die Bakterien die Röhre wieder zu verlassen, so daß dann innerhalb der Röhre ebensoviele oder weniger Bakterien vorhanden sind wie außen.

Füllt man die Röhre mit destilliertem Wasser allein, so unterbleibt, falls man sie vorher gründlich gereinigt hat, die Ansammlung.

Salzsäure. Bei 0,005 Proz. und 0,01 Proz. Salzsäure erfolgte rasch Anlockung, so wie ich dies oben für die Kohlensäureversuche beschrieben habe. Hingegen zeigte sich bei 0,1 Proz. und konzentrierteren Lösungen Abstoßung und schädliche Einwirkung. Keine Anziehung, wohl aber Abstoßung konnte ich für Rhodospirillum photometricum bei 0,01—0,001 Proz. beobachten.

Schwefelsäure übte bei einer Konzentration von 0,005 und 0,0025 Proz. eine schwache Anziehung aus, hingegen keine bei einer Konzentration von 0,01 Proz. Ebenso verhielt sich ein marines Rhodo-

[1]) Pfeffer, W., Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. Untersuch. a. d. Tübinger Institut. Bd. II Heft 3 (1888) S. 659.

spirillum. Hingegen konnte ich bei Rhodospirillum photometricum keine Anlockung konstatieren. —

Salpetersäure. Die Resultate waren ähnlich den mit Schwefelsäure erzielten. Rhodospirillum giganteum erfährt durch 1 Proz. Abstoßung, durch 0,01 Proz. und verdünntere Lösungen Anlockung. Durch solche verdünnte Lösungen wird auch ein marines Rhodospirillum angelockt, aber nicht Rh. photometricum.

Essigsäure. Im allgemeinen wirkt Essigsäure wenig anlockend. Bei Rhodospirillum giganteum sah ich bei Anwendung von 0,01 und 0,005 Proz. schwache Anlockung, aber die Resultate waren nicht immer präzis, denn nicht selten war das Ergebnis negativ. Stets negativ fielen die Versuche bei Rh. photometricum aus, hingegen sehr deutlich positiv bei dem marinen Rhodospirillum.

Nach Pfeffer fliehen farblose Bakterien sauer oder alkalisch reagierende Substanzen. Aus dem Vorhergehenden ist zu ersehen, daß gewisse Purpurbakterien auch durch freie Säuren angelockt werden können, namentlich durch Kohlensäure.

Kalilauge in 0,1 proz. Lösung wirkt auf Rhodospirillum giganteum und Chromatium abstoßend.

Chlorkalium in 1 proz. Lösung lockt Rhodospirillum giganteum stark, Chromatium sehr schwach an.

Dextrin ist ein ausgezeichnetes Lockmittel. In 1 proz. Lösung in einem Röhrchen geboten, versammelt es Rhod. giganteum und andere kleinere Rhodospirillen rasch um den Kapillarmund. Gleichzeitig schlüpfen sie in die Röhre ein und bilden hier alsbald einen tief dunkelroten, immer mehr vorrückenden Schwarm. Beim Chromatium blieb ich bezüglich der Chemotaxis im Zweifel, falls eine Anlockung erfolgen sollte, ist sie sicherlich ganz schwach.

Rohrzucker in 1 proz. Lösung geboten, lockte Rhodospirillum giganteum und andere Rhodospirillen aus Heuinfus sehr rasch im Kapillarröhrchen an, so daß sich eine rote Wolke darin bildete. Bei Chromatium blieb die Wirkung aus.

Pepton. Eine 1 proz. Lösung wirkte stark anlockend auf die eben genannten Rhodospirillen. Hingegen trat keine Anlockung ein bei Chromatium und zwar gleichgültig, ob das Pepton im Meerwasser oder im destillierten Wasser gelöst war.

Schwefelwasserstoff. Da die Purpurbakterien in der Natur gewöhnlich in schwefelwasserstoffreichen Wässern auftreten und da sie

Schwefelwasserstoff augenscheinlich lieben, so empfahl sich auch eine Prüfung mit diesem Körper. Merkwürdigerweise erhielt ich bei meinem marinen Chromatium, welches sogar Schwefel in seinem Innern reichlich einlagert, keine positiven Resultate, während Rhodospirillum giganteum und andere durch Schwefelwasserstoff in sehr starker Weise angelockt werden. Auch die verschiedenen Chromatium-Arten scheinen sich Schwefelwasserstoff gegenüber verschieden zu verhalten, denn während ich mit meinem marinen Chromatium negative Ergebnisse erhielt, erwies sich Chromatium Weissii in den Versuchen von Miyoshi[1]) stark positiv chemotaktisch.

[1]) Miyoshi, M., l. c.

VI.

Über die Ernährung der Purpurbakterien.

a) Die Notwendigkeit organischer Substanzen.

Die Frage, ob die Purpurbakterien zu ihrer vollkommenen Entwicklung organischer Substanz unumgänglich notwendig bedürfen oder nicht, erheischt ein besonderes Interesse, da ja nach Engelmanns Untersuchungen die Purpurbakterien angeblich Kohlensäure zu assimilieren vermögen wie chlorophyllhaltige Zellen. Da ich aber auf Grund meiner Beobachtungen zur entgegengesetzten Anschauung gelangt bin, so war ich begierig zu sehen, wie sich denn Purpurbakterien bei Darbietung oder Nichtdarbietung von organischen Substanzen verhalten und, wenn sie organischer Stoffe bedürfen, mit welchen sie dann ihr Auslangen finden.

Hätte Engelmann Recht, dann sollte man erwarten, daß die Purpurbakterien auch ohne organische Substanz sich zu entwickeln vermögen und daß sie aus rein anorganischem Material, d. h. aus Kohlensäure sich organische Substanz zu bereiten imstande sind.

Unsere Kenntnisse über die Ernährung der Purpurbakterien sind lückenhaft; was ich darüber vorfand, rührt von Winogradsky[1]) und Nadson[2]) her. Winogradsky sagt: „Was die Ernährung dieser Organismen mit organischen Substanzen anbetrifft, so können sie mit ganz geringen Mengen derselben fortkommen. Als Kulturflüssigkeit gebrauchte ich das Straßburger Brunnenwasser, dem ich 0,005—0,01 Proz. buttersauren Kalk zusetzte. Statt dieses gab ich manchmal gleiche Mengen von ameisensaurem Kalk oder essigsaurem Natron zu. Die Bakterien schienen mir bei allen diesen Zusätzen gleich gut zu wachsen. Ich

[1]) Winogradsky, S., Beiträge usw. l. c. S. 53.

[2]) Nadson, G., Observations sur les bactéries pourprées. Mitteilungen des Kais. bot. Gartens in St. Petersburg. T. III, Fasc. IV. 1903, S. 99—109. Russisch, mit französisch. Résumé. Ein Referat darüber im Botan. Zentralbl. 1904, Bd. XCVI. S. 90.

probierte auch bessere Nährstoffe — Pepton und Fleischextrakt in sehr großer Verdünnung: etwa ein paar Tropfen einer 1 Proz.-Peptonlösung auf 10 ccm Wasser oder eine Fleischextraktlösung, die kaum mehr gelblich erschien. Ich konnte aber absolut keine günstige Wirkung dieser Stoffe auf das Wachstum bemerken."

Winogradskys Angaben stützen sich nicht auf Reinkulturen, sie bedürfen daher durchwegs einer Überprüfung. Denn wenn sich Purpurbakterien in seinen Kulturen bei Zusatz von Pepton oder Fleischextrakt nicht besser entwickelten, so könnte dies vielleicht auf einen Kampf der in den unreinen Kulturen vorhandenen Bakterien zurückzuführen sein, es könnten sich dann andere Bakterien breit machen und die Entwicklung der Purpurbakterien beeinträchtigen. In der Tat wird sich ja auch zeigen, daß die Purpurbakterien nicht nur Pepton in großen Mengen vertragen, sondern sogar dabei prächtig gedeihen und sich stark vermehren, falls man mit Reinkulturen arbeitet. — —

Bekanntlich betrachtet Winogradsky den Schwefelwasserstoff als unumgänglich notwendig für die Ernährung der farblosen und der roten Schwefelbakterien. Nadson[1]) hingegen kam auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis, daß die roten Purpurbakterien lange Zeit ohne Schwefelwasserstoff leben, sich vermehren und bewegen können und daß sie hierbei frei von Schwefel bleiben. Er betrachtet daher den Schwefelwasserstoff nicht als eine notwendige Bedingung für die Entwicklung der Rhodobakterien, sondern nur für nützlich, insofern er diese Bakterien, die mikroaërophil sind, vor der Berührung mit Sauerstoff schützt.

Er hält es infolgedessen auch nicht für bewiesen, daß bei den Purpurbakterien die Oxydation des Schwefelwasserstoffs die Energiequelle darstellt für die intrazellulare Spaltung der organischen Stoffe.

Ich werde in dieser Schrift auf die sehr beachtenswerten Einwände Nadsons noch nicht eingehen, weil ich der Meinung bin, daß sich eine exakte Lösung dieser fundamentalen Frage erst gewinnen läßt, wenn man mit Reinkulturen von schwefeleinlagernden Purpurbakterien experimentiert. Ich hoffe, bald über tadellose Reinkulturen von Chromatium zu verfügen und gedenke dann diese wichtige Frage einer speziellen Prüfung zu unterwerfen.

Nachdem ich mich durch zahlreiche Vorversuche, auf die ich nicht näher eingehen will, über die Ernährungsbedürfnisse orientiert hatte,

[1]) Nadson, G., l. c.

wurden folgende größere Versuchsreihen durchgeführt. Experimentiert wurde hauptsächlich mit zwei Bakterien aus der Gruppe der Athiorhodaceae, 1. mit Rhodobacillus palustris, 2. mit Rhodobacterium capsulatum und endlich mit einem fast rein kultivierten marinen Chromatium.

I. Versuchsreihe.

Rhodobacillus palustris Molisch.

Die Kulturen befanden sich in Erlenmeyerkölbchen. Unsere Purpurbakterie gedeiht, wie ich bereits an anderer Stelle bemerkte, ausnahmsweise auch bei reichlicherem Zutritt von Luft, daher konnten die Versuche in relativ niederen Kölbchen, wo die Flüssigkeitsschichte keine bedeutende Höhe erreichte, vorgenommen werden. 31 Kölbchen von 130 cm^3 Inhalt wurden mit je 100 cm^3 der Nährlösung gefüllt, sterilisiert, geimpft und dann, vor Staub durch einen großen prismatischen Glassturz geschützt, an einem Nordfenster des Laboratoriums starkem, diffusen Lichte ausgesetzt. Die Stammlösung war in allen Fällen reines Moldauwasser. Die Zusätze ergeben sich aus der Tabelle auf Seite 67. Beginn des Versuchs am 14. Juni 1906, Ende am 15. September 1906.

Der Ausfall der Versuche lehrt uns zunächst die wichtige Tatsache, daß die verwendete Versuchsbakterie in reinem Moldauwasser, obwohl es etwas organische Substanzen enthält, überhaupt nicht gedeiht. Es bleibt vollständig klar, auch nicht eine Spur einer Entwicklung ist zu bemerken. Keine Entwicklung oder nur eine minimale findet statt in den Gefäßen, die im Moldauwasser Rohrzucker, Dextrin, Asparagin, Glyzerin, weinsaures Ammoniak, Pepton oder Gemische von Asparagin mit Dextrin, Asparagin mit Glyzerin und Dextrin mit Inulin enthalten.

Hingegen zeigte sich eine reichliche Entwicklung in absteigender Reihe in den Gemischen von Pepton-Glyzerin, Pepton-Dextrin und Pepton-Inulin. Nirgends war die Vermehrung so üppig wie bei Pepton-Glyzerin, es erwies sich daher unter sämtlichen in der Tabelle angeführten Nährlösungen diejenige, welche aus Moldauwasser mit 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ bis 1 Proz. Glyzerin bestand, unter meinen Versuchsbedingungen als die beste Nährlösung. —

Wie aus der Tabelle hervorgeht, genügt ein Zusatz von Kohlehydraten und gewissen anderen organischen Körpern für sich allein nicht für die Ernährung, auch Pepton allein erweist sich als unzureichend, insofern es nur eine ganz schwache Vermehrung zuläßt, hingegen wächst der Rhodobacillus palustris ausgezeichnet, wenn dem

Tabelle 1.

Nr. des Versuchs	Moldauwasser mit	Rötung tritt ein nach Tagen	Ernte am Ende des Versuchs	Anmerkung
1	keinem Zusatz			In den Gefäßen, in welchen Entwicklung der Bakterien eintrat, bildete sich ein mehr minder starker, intensiv roter Bodensatz. Merkwürdigerweise aber meistens nicht an der dem Fenster zugekehrten, sondern an der entgegengesetzten Seite, weil das mit Flüssigkeit gefüllte Kulturkölbchen ähnlich wie eine bikonvexe Linse wirkt und das Licht nach der Zimmerseite konvergieren macht. Es ist daher die Innenseite des Kölbchens die besser beleuchtete und daher vermehren sich die Bakterien hier reichlicher und bilden einen höheren Bodensatz.
2	„ „			
3	1 % Rohrzucker			
4	½ % „			
5	1 % Dextrin			
6	½ % „			
7	1 % Inulin			
8	½ % „			
9	1 % Asparagin			
10	½ % „			
11	1 % Glyzerin			
12	½ % „			
13	1 % Pepton	12	sehr gering	
14	1 % „	12	„ „	
15	1 % Pepton + 1 % Rohrzucker	19	Spur	
16	1 % „ + ½ % „	19	gering	
17	1 % „ + 1 % Dextrin	10	reichlich	
18	1 % „ + ½ % „	9	ziemlich reichlich	
19	1 % „ + 1 % Inulin	10	reichlich	
20	1 % „ + ½ % „	12	reichlich	
21	1 % „ + 1 % Asparagin	12	gering	
22	1 % „ + ½ % „	12	gering	
23	1 % „ + 1 % Glyzerin	8	sehr reichl.	
24	1 % „ + ½ % „	8	„ „	
25	½ % Asparagin + ½ % Dextrin			
26	½ % „ + ½ % Glyzerin			
27	½ % Dextrin + ½ % Inulin	8	mäßig (Der Bodensatz zeigte wenig Farbstoff, er war blaßrötlich.)	
28	1 % weinsaures Ammon			
29	1 % „ „			
30	1 % Pepton + 1 % Dextrin	20		Vom Lichte abgeschlossen
31	1 % „ + 1 % „	20		„ „ „

Pepton noch Glyzerin oder gewisse Kohlehydrate hinzugefügt werden, z. B. Dextrin oder Inulin. Auf die wichtige Tatsache, daß die Bakterie unter den gegebenen Bedingungen, trotzdem sie sich in einem guten Nährmedium befand, sich im Finstern nur mäßig entwickelt und sehr wenig Farbstoff bildet, werde ich im folgenden (S. 69 ff.) zu sprechen kommen.

II. Versuchsreihe.

Rhodobacterium capsulatum Molisch.

Die Kulturen mit dieser marinen Bakterie wurden in hochgefüllten Eprouvetten angelegt, um den Sauerstoffzutritt zu erschweren. Nachdem die Proberöhrchen, 32 an Zahl, mit den Nährlösungen bis 1 cm unter dem Wattepfropf gefüllt worden waren, wurden sie sterilisiert, geimpft und an einem Nordfenster des Laboratoriums starkem diffusen Licht ausgesetzt. Die Stammlösung war in allen Fällen Triester Meerwasser. Beginn des Versuchs am 16. Juni 1906, Ende am 15. September 1906.

Tabelle 2.

Nr. des Versuchs	Nährflüssigkeit: Meerwasser +:	Beginn der Entwicklung nach Tagen	Entwicklung am Ende des Versuches, nach 3 Monaten	Anmerkung
1	Reines Meerwasser		keine	Nährflüssigkeit vollkommen klar
2	" "		"	
3	1 % Rohrzucker		"	
4	1 % "		"	
5	1 % Dextrin		"	
6	1 % "		"	
7	1 % Inulin	10	schwach	
8	1 % "	11	mäßig	
9	1 % Asparagin		Spur	
10	1 % "		keine	tief roter Bodensatz
11	1 % Pepton	19	sehr reichlich	
12	1 % "	19	" "	
13	1 % Glyzerin		keine	
14	1 % "		"	
15	1 % Pepton + 1/2 % Rohrzucker	19	sehr reichlich	tief roter Bodensatz
16	1 % " + 1/2 % "	20	" "	
17	1 % " + 1/2 % Glyzerin	19	reichlich	
18	1 % " + 1/2 % "	17	mäßig	
19	1 % " + 1/2 % Dextrin	21	reichlich	
20	1 % " + 1/2 % "	19	"	
21	1 % " + 1/2 % Asparagin	19	mäßig	
22	1 % " + 1/2 % "	19	"	Hier die stärkste Entwicklung.
23	1 % " + 1/2 % Inulin	8	sehr reichlich	Überaus reichlicher Bodensatz
24	1 % " + 1/2 % "	8	" "	
25	1/2 % Asparagin + 1/2 % Dextrin	13	Spur	
26	1/2 % " + 1/2 % "	11	"	
27	1/2 % Dextrin + 1/2 % Inulin	20	schwach	
28	1 % weinsaures Ammon		keine	
29	1 % " "		"	
30	1 % Pepton	19	mäßig	finster
31	1 % "	20	"	"
32	1 % "	19	"	"

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, bleibt auch bei der marinen Purpurbakterie (Rhodobacterium capsulatum) ohne Zusatz einer organischen Substanz die Entwicklung vollständig aus. Es trat nicht eine Spur einer Trübung auf.

Ein Zusatz von Kohlehydraten wirkte nicht gleichartig: während Rohrzucker und Dextrin für sich allein in der dargebotenen Konzentration Gedeihen nicht ermöglichten, ist dies bei Inulin bis zu einem gewissen Grade der Fall. Asparagin, Glyzerin und weinsaures Ammoniak für sich, fördern die Entwicklung nicht. Hingegen bewirkt Pepton für sich, dann mit Rohrzucker oder Dextrin, ganz besonders aber mit Inulin starke Vermehrung. Glyzerin und Asparagin bei gleichzeitiger Anwesenheit von Pepton wirken nicht so gut. Die stärkste Rötung und der reichlichste Bodensatz war bei Pepton mit Inulin zu sehen.

Gegenüber Rhodobacillus palustris zeigt sich insofern ein Unterschied, als dieser mit Pepton allein schlecht gedeiht und zur günstigen Vermehrung noch einer anderen organischen Substanz bedarf, z. B. eines Kohlehydrats oder Glyzerins, während das Rhodobacterium capsulatum auch mit Pepton allein ganz gut sein Auslangen findet.

Soviel über die Ernährungsversuche mit Reinkulturen. Es sei nur noch hervorgehoben, daß auch zahlreiche andere Purpurbakterien, die ich nicht ganz rein in Händen hatte, Rhodonostoc, verschiedene Rhodospirillen und was von besonderem Interesse ist, auch eine rote Schwefelbakterie, nämlich mein marines Chromatium aus Triest sowohl teilweise in flüssigen als auch durchwegs in festen (Agar- oder Gelatine-)Nährböden, die neben Moldauwasser bzw. Meerwasser 1 Proz. Pepton + $^1/_2$ Proz. Dextrin enthielten, in so ausgezeichneter Weise gediehen, daß die betreffenden Nährmedien oft tiefrot gefärbt waren.

Wenn also Winogradsky (l. c. 53) angibt, daß die roten Schwefelbakterien organische Substanzen in größeren Mengen nicht vertragen und daß Pepton keine günstige Wirkung ausübe, so lehren meine Versuche und Erfahrungen das Gegenteil, denn ohne Pepton zeigte sich selbst bei einer so typischen Schwefelbakterie, wie es Chromatium ist, überhaupt keine oder sehr schlechte Vermehrung.

b) Die Bedeutung des Lichtes.

Die mit Rhodobacillus palustris im Lichte und im Finstern durchgeführten Ernährungsversuche lehren, daß das Licht von Bedeutung ist, doch erscheint sein Einfluß je nach den Versuchsbedingungen verschieden. Kultiviert man die Bakterie in einer Nährlösung von 100 Teilen

Moldauwasser + ½ Proz. Pepton + ½ Proz. Dextrin, so ist der Einfluß des Lichtes auffallend. Es findet dann im Lichte so starke Vermehrung und so intensive Farbstoffbildung statt, daß sich ein reichlicher blutroter Bodensatz bildet. Im Finstern findet zwar auch Entwicklung statt, allein viel schwächer, auch ist die Farbstoffbildung so gehemmt, daß der entstehende Bodensatz selbst nach einem halben Jahre nur sehr schwach gefärbt ist. Der die Entwicklung fördernde Einfluß gibt sich bei der Kultur in Erlenmeyerkölbchen auch darin in auffallender Weise zu erkennen, daß in den meisten Kulturgefäßen der Bodensatz sich an der vom Fenster abgewendeten Seite in Form einer tiefroten Mondsichel aufspeichert, an der Zimmerseite deshalb, weil durch die Krümmung der Gefäßwände die Lichtstrahlen nach der Zimmerseite konvergierend gemacht werden.[1]) Hier ist das Licht intensiver als an der Fensterseite und daher der auffallend stärkere Bodensatz. —

Kultiviert man hingegen in Gelatine oder Agar, also in festen Nährsubstraten, so ist ein Unterschied zwischen Licht- und Finsterkulturen zwar in vielen Fällen auch zu bemerken, aber er ist nicht bedeutend. Auf Kartoffelscheiben läßt auch die Farbstoffbildung im Finstern nichts zu wünschen übrig. —

Der Einfluß des Lichtes bei Rhodobacterium capsulatum ist auch unverkennbar, aber er ist bedeutend schwächer als bei der vorigen Art. Am besten tritt der Unterschied zwischen Licht- und Finsterkulturen noch in Erlenmeyerkölbchen hervor, weil sich die einseitige Ansammlung des roten Bodensatzes an der stärker beleuchteten Innenseite scharf erkennen läßt. In Gelatine- und Agarkulturen findet auch bei Abschluß von Licht gute Entwicklung statt. —

Anschließend seien hier noch einige Versuche über Pupurbakterien in ihrer Abhängigkeit vom Lichte unter mehr natürlichen Bedingungen mitgeteilt. In den vorhin geschilderten Experimenten wurden den Bakterien Flüssigkeiten oder feste Nährsubstrate von bestimmter chemischer Zusammensetzung geboten, auch waren die Bakterien entweder ganz rein oder nur mit einer oder einigen wenigen Arten vermischt.

In den folgenden Versuchen arbeitete ich mit Flüssigkeiten, die sicherlich sehr kompliziert zusammengesetzt waren und in denen pflanzliche oder tierische Objekte, wie Heu, Seegras (Zostera), Hühnereier oder Schnecken faulten und in denen sich die Purpurbakterien im Wettkampf mit vielen anderen Organismen, z. B. Protozoen, farblosen Bakterien, Algen und Infusorien, entwickeln konnten.

[1]) Chmielevsky, V., Über Phototaxis und die physikalischen Eigenschaften der Kulturtropfen. Beihefte z. bot. Zentralblatt 1904. Bd. XVI, S. 53.

1. Versuch mit Heuwasser. Am 3. März 1906 wurden 8 Glasgefäße von 16 cm Höhe und 6 cm Breite, die aber nach oben bis zu 3 cm verschmälert waren, teilweise mit Heu beschickt, mit Moldauwasser bis hinauf gefüllt und dann ins Warmhaus gestellt. Vier davon wurden mit einem undurehsichtigen Zinnsturz bedeckt und die vier anderen dem Tageslicht ausgesetzt.

Mitte April färbte sich das Wasser in allen Lichtgefäßen bräunlichrot infolge massenhaften Auftretens von Purpurbakterien. Vorherrschend war Rhodospirillum photometricum, daneben traten noch andere Rhodospirillen verschiedener Art auf. Außerdem hatten sich Diatomeen und grüne Euglenen entwickelt. In den Dunkelgefäßen hingegen war das Wasser wie gewöhnlicher Heuinfus gefärbt, es fanden sich farblose Bakterieu und farblose Flagellaten vor, von Purpurbakterien hatte sich aber nichts entwickelt. Die Gefäße blieben dann noch weiter unter gleichen Bedingungen stehen, wurden in den folgenden Monaten bis Mitte Juli von Zeit zu Zeit wieder untersucht, ohne daß das Resultat ein anderes geworden wäre. Es bildeten sich also bei Abschluß von Licht keine Purpurbakterien.

Wenn sich Purpurbakterien bilden sollen, so genügt nicht jedes Licht, sondern es muß eine gewisse Intensität haben. Macht man denselben Versuch wie vorhin, jedoch mit dem Unterschied, daß ein Teil der Kulturgefäße unmittelbar am Fenster, der andere aber an der Rückwand des Zimmers steht, so erscheinen nach einigen Monaten die Gefäße am Fenster infolge der reichlichen Entwicklung von Purpurbakterien schon von weitem rot, während die im schwachen diffusen Lichte stehenden Gefäße von einer roten Farbe niehts erkennen lassen.

2. Versuch mit gekochtem Ei und Moldauwasser. Derselbe Versuch wie bei 1, nur wurde statt des Heus in jedes Gefäß $^1/_4$ eines gekochten Eies hineingegeben. Beginn des Versuchs am 19. April 1906.

Schon nach einem Monat begann in den belichteten Gefäßen auf der Oberfläche des Eies eine Rotfärbung aufzutreten, gleichzeitig bildeten sich an der Glasfläche rote Inseln von Purpurbakterien und grüne Häufchen von einzelligen kugelrunden Algen. In den Dunkelgefäßen war davon nichts zu sehen. Hier war die Flüssigkeit nur von farblosen Bakterien und Infusorien getrübt. Ich ließ den Versuch bis 6. Juli stehen. Um diese Zeit waren alle Lichtgefäße rot gefärbt, drei davon intensiv, das 4. weniger, hier hatten die Algen die Purpurbakterien überwuchert. Die Rotfärbung war vornehmlich unten bei der Eimasse intensiv, fast purpurn, und nahm nach oben ab. Auch viele grüne einzellige Algen hatten sich an den Wänden angesiedelt. Die

roten Massen, die unten immer starken Bodensatz bildeten, setzten sich aus Rhodococcus, Rhodobacterium und Rhodobacillus zusammen.

In den Dunkelgefäßen war auch am Ende des Versuchs weder von Purpurbakterien noch von Algen eine Spur aufzufinden. Hier fand ich nur einen Bodensatz von farblosen Bakterien und toten Infusorien.

3. Versuch mit der Sumpfschlammschnecke (Limnaeus stagnalis). Vier Eudiometerröhren von 75 cm Länge und 4 cm Breite erhielten je eine lebende Sumpfschlammschnecke, wurden mit Moldauwasser vollends gefüllt, gut verkorkt und dann in ein mit Wasser versehenes Glasgefäß gestellt, um den Sauerstoff möglichst abzuhalten. Zwei von den Gefäßen standen im Lichte und zwei im Finstern. Beginn des Versuchs am 19. April 1906.

Einen Monat später bildete sich in den Lichtgefäßen längs der ganzen Röhre ein grüner Belag von Chlorophyceen und unten über den Kork in einer Ausdehnung von 10 cm färbte sich die Flüssigkeit purpurkarminrot. Die Ursache davon war ein mittelgroßes schlankes Rhodospirillum in ungeheurer Menge. In den dem Lichte entzogenen Gefäßen waren Algen und Purpurbakterien auch nicht spurenweise aufgetreten.

Am 7. Juli unterbrach ich den Versuch. Es war die Rotfärbung in den Lichtgefäßen noch intensiver geworden und oben hatte sich wegen der Sauerstoffentbindung durch die Algen Gas in größerer Menge angesammelt. Daher bildeten sich die Purpurbakterien nur unten.

4. Versuch mit Seegras und Meerwasser. Am 19. April 1906 versah ich 4 zylindrische Gefäße von 30 cm Höhe und 5 cm Breite teilweise mit vom Meere ausgeworfenem nassen Seegras, füllte die Gefäße mit Triester Meerwasser und stellte zwei davon ans Licht an ein Südfenster, zwei daneben ins Finstere.

Bis zum 7. Juli hatten sich keine Purpurbakterien entwickelt, weder in den belichteten noch in den unbelichteten Gefäßen. In den ersteren fanden sich reichlich Chlorophyceen und Diatomeen. Ich ließ die Gefäße noch weiter stehen.

Als ich sie im Herbste wieder untersuchte, befand sich auf dem Boden der Lichtgefäße ein reichlicher Bodensatz von Chromatium und Thiocystis, in den Dunkelgefäßen aber keine Spur davon. —

Es hat sich also ergeben, daß das Licht die Entwicklung der Purpurbakterien mehr minder günstig beeinflussen kann. Zwar ist bei Reinkulturen, soweit meine Untersuchungen reichen, das Licht nicht notwendig, denn es können manche Rhodobakterien namentlich in festen Nährböden auch im

Finstern sehr gut wachsen, allein in flüssigen Nährmedien ist der Einfluß schon leicht erkennbar. Besonders auffallend macht sich die Einwirkung des Lichtes im Wasser mit faulenden organischen Stoffen (Heu, Seegras, Tiere) geltend, da ein reichliches Aufkommen oder das Auftreten der Purpurbakterien überhaupt an die Anwesenheit von Licht gebunden erscheint.

Es verhalten sich demnach die Purpurbakterien dem Lichte gegenüber bezüglich ihrer Entwicklung ähnlich wie Algen. So wie diese in der freien Natur gewöhnlich nur im Lichte aufkommen, in Reinkulturen aber bei Darbietung organischer Substanz sich häufig auch im Finstern entwickeln können, so auch die Purpurbakterien. In einem Punkte besteht aber ein wesentlicher Unterschied: die Alge benötigt zu ihrem Gedeihen im Lichte gewöhnlich nicht der organischen Substanz, da sie Kohlensäure zu assimilieren vermag, die Purpurbakterie benötigt sie, soweit sich die Sache heute überschauen läßt, immer, sowohl im Finstern wie im Lichte.

Wir stehen hier vor dem merkwürdigen Falle — und darin nehmen die Purpurbakterien unter allen Bakterien überhaupt eine ganz gesonderte Stellung ein —, daß Bakterien zwar auf organische Substanz bezüglich ihrer Ernährung angewiesen sind, daß sie diese aber häufig nur im Lichte in ausreichendem Maße oder überhaupt verarbeiten können. Über den eventuellen Zusammenhang dieser merkwürdigen Erscheinung mit dem ausschließlich bei Purpurbakterien konstatierten Vorkommen von zwei Farbstoffen werde ich mich am Schlusse des nächsten Kapitels aussprechen.

VII.

Die Farbstoffe der Purpurbakterien.

a) Historisches.

Wie unvollkommen unsere bisherigen Kenntnisse über das Bakteriopurpurin waren, geht aus der folgenden Literaturübersicht am besten hervor. Offenbar stand den Forschern, die sich mit dem Gegenstande beschäftigt hatten, so wenig Material zur Verfügung, daß es vielleicht für einige wenige mikrochemische Versuche ausreichte, aber nicht mehr für genügend viele makroskopische. Auch war das Versuchsmaterial nicht rein. Man arbeitete mit Speziesgemischen von Purpurbakterien und diese waren aller Wahrscheinlichkeit nach vielfach vermischt mit Algen und anderen Organismen. Es fehlte noch an Reinkulturen. Es darf daher in Anbetracht des spärlichen und unreinen Materiales nicht Wunder nehmen, daß die damit gewonnenen Ergebnisse teils lückenhaft, teils unrichtig, teils widersprechend waren und einer erneuten Prüfung bedurften.

Bezüglich des Materiales war ich glücklicher daran. Mit Hilfe der im I. Kapitel beschriebenen Methoden konnte ich mir verschiedene Purpurbakterien vom Frühjahr bis zum Herbste in ziemlicher Menge verschaffen, auch standen mir zum ersten Male Reinkulturen verschiedener Formen für gewisse Fragen in ausreichendem Maße zur Verfügung.

Bekanntlich hat R. Lankester[1]) den Farbstoff der Purpurbakterien zuerst untersucht, ihn als einen eigenartigen erkannt und Bakteriopurpurin genannt. Nach diesem Forscher soll der erwähnte Farbstoff in Wasser, Alkohol, Chloroform, Ammoniak, Essigsäure und Schwefelsäure unlöslich sein, durch heißen Alkohol in eine braune und durch Chloroform in eine orangebraune Substanz umgewandelt werden. Wie

[1]) Lankester, Ray, On a Peach-coloured Bacterium (1873). l. c. S. 408.

Lankester zu so falschen Angaben wie Unlöslichkeit des Farbstoffes in Chloroform gelangen konnte, ist mir nicht recht verständlich, da der rote Farbstoff gerade in Chloroform leicht löslich ist. Wahrscheinlich hat der genannte Autor das Wasser von den Bakterien nicht genügend entfernt und dadurch das Eindringen des Chloroforms verhindert.

Lankester gibt auch als erster das Spektrum des Bakteriopurpurins an. Es zeichnet sich nach ihm durch eine Endabsorption in Violett und zwei Bänder aus, das eine liegt bei D, das andere bei E.

Später hat Warming[1]), der, wie ich bereits früher hervorgehoben habe, den an der dänischen Küste vorkommenden Rhodobakterien große Aufmerksamkeit geschenkt hatte, das Spektrum des Bakteriopurpurins beschrieben und findet es ein klein wenig verschieden von den Angaben des englischen Forschers.

Engelmann[2]) hat sein Bacterium photometricum in die Lichtfalle gelockt und an einer Anhäufung der roten Bakterien, die einen Zylinder von 0,2 mm Durchmesser und 0,1 mm Höhe darstellte, das Spektrum studiert. Er sagt: „Zwei Absorptionsbänder waren deutlich: ein völlig schwarzes, namentlich nach der roten Seite ziemlich scharf begrenztes, im Orange, Gelb und Gelbgrün, von 0,61 bis 0,57 reichend; ein zweites, etwas weniger dunkles und weniger scharf begrenztes, zwischen 0,55 und 0,52 im Grün. Von 0,50 (Blau) an begann dann eine starke Verdunkelung des violetten Endes. Relativ ungeschwächt erschien nur das Rot vom äußersten sichtbaren Ende bis zu 0,615, sehr bedeutend geschwächt dagegen das Grün zwischen 0,57 und 0,55 und das Blaugrün zwischen 0,50 und 0,52. Das absolute Helligkeitsmaximum lag im Rot bei 0,62—0,63 anstatt im Gelbgrün bei 0,58.“

Von Chlorophyllspuren konnte Engelmann spektroskopisch nichts entdecken, was auch mit meinen eigenen Untersuchungen stimmt.

Engelmann[3]) weist auf die verschiedenen Farbentöne der Purpurbakterien hin und schließt aus denselben, daß man es, ähnlich wie beim lebenden Chlorophyll, ohne Zweifel nicht mit einem einzigen chemischen Körper, sondern mit einem wechselnden Gemenge mehrerer, wenigstens zweier Farbstoffe zu tun hat. Eine experimentelle Begründung dieser Behauptung findet sich bei dem genannten Forscher nicht, doch haben meine Untersuchungen tatsächlich das Vorhandensein von zwei verschiedenen Farbstoffen ergeben.

---

[1]) Warming, E., l. c. S. 3 (der französ. Zusammenfassung).

[2]) Engelmann, Th. W., Bacterium photometricum, l. c. S. 99.

[3]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien usw., l. c. S. 679. Vgl. hier auch die Anmerkung 2) auf S. 680.

Winogradsky[1]) hat sich mit dem Bakteriopurpurin mikrochemisch beschäftigt. Er schließt aus dem Umstande, daß ein Stück roter Bakterienhaut, in absoluten Alkohol gebracht, sofort entfärbt wird, auf eine Lösung des Farbstoffes in Alkohol. In Äther und Chloroform soll nur bei langer Einwirkung eine allmähliche Verfärbung eintreten, wie sie sich auch bei Abtötung der Zellen mit destilliertem Wasser und anderen Reagentien einstellt.

Erwähnen möchte ich noch, daß Winogradsky die Bläuung, die ein Stück roter Bakterienhaut auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure zeigt, bereits angibt. Da er die Blaufärbung bei allen ihm bekannten roten Schwefelbakterien gesehen hat, so schließt er daraus, daß sie alle dasselbe Pigment enthalten.

Ziemlich abweichend von den bisherigen Beobachtungen lauten die Angaben Bütschlis[2]). Er hält das Bakteriopurpurin für identisch mit dem roten Farbstoff von Euglena sanguinea und Haematokokken, also für identisch mit dem Haematochrom Cohns oder, wie wir heute sagen würden, mit Carotin. Mit Rücksicht auf meine eigenen Untersuchungen ist folgende Stelle bei Bütschli bemerkenswert: „Es (das Bakteriopurpurin) wird von absolutem Alkohol rasch ausgezogen, wobei aber die Chromatien zunächst nicht farblos, sondern deutlich grün werden; da nun der rote Farbstoff selbst durch Alkohol nicht verändert wird, vielmehr einfach in Lösung geht, so möchte ich hieraus schließen, daß wie bei Oszillarien, Diatomeen und Florideen ein Farbstoffgemenge vorliegt, d. h. daß neben dem im Alkohol leichter löslichen roten Pigment ein schwerer extrahierbares grünes, chlorophyllartiges vorhanden ist. Wird die Alkoholbehandlung länger fortgesetzt, so geht auch der grüne Farbstoff in Lösung, die Chromatien werden ganz entfärbt."

Die alkoholische Lösung findet der genannte Autor pfirsichblüh- bis ziegelrot und durch Verdampfen konnte er den roten Farbstoff in kristallinischen roten Blättchen oder Aggregaten von solchen gewinnen. Da sich die Kriställchen mit Schwefelsäure blau und mit Jodlösung blaugrün färben, so hält er den roten Farbstoff für identisch mit dem von Euglena sanguinea. Wie man aus diesen Angaben und aus meinen eigenen, die später folgen, ersieht, hat Bütschli richtig die Anwesenheit von zwei Farbstoffen vermutet; hätte er mehr Material gehabt, so hätte er vielleicht auch den grünen absondern können. Freilich

---

[1]) Winogradsky, S., Beitr. zur Morphologie usw., l. c. S. 45.

[2]) Bütschli, O., Über den Bau der Bakterien usw., Leipzig 1890, S. 9ff.

wäre dann, da er nicht über Reinkulturen verfügte, noch immer der Einwand möglich gewesen, daß der grüne Farbstoff aus Algen, die mit den Chromatien gesellig lebten, herrühre. Daß der grüne Farbstoff nicht Chlorophyll ist und daß der rote nicht ohne weiteres mit Carotin der erwähnten Organismen identifiziert werden darf, wird weiter unten dargetan werden.

Die letzte Mitteilung, die ich über das Bakteriopurpurin in der Literatur vorgefunden habe, rührt von Archichovskij[1]) her.

Die Arbeit war mir leider im Original nicht zugänglich und das Referat, welches ich darüber im Botanischen Zentralblatt vorfand, war für mich wegen seiner allzugroßen Kürze und der Druckfehler in manchen Punkten unklar. Archichovskij scheint zwischen dem roten Pigment der Purpurbakterien, dem Bakteriopurpurin und einem rosafarbenen, mit Alkohol extrahierbaren, dem Bakterioerythrin zu unterscheiden. Von der Anwesenheit des letzteren in der alkoholischen Lösung überzeugt er sich mittelst der Kapillarmethode; denn ein mit Wasser befeuchtetes Filtrierpapier wird, in die alkoholische Lösung getaucht, rosarot. Das gleiche Verhalten zeigt ein Kollodiumniederschlag, wenn man zum alkoholischen Auszug etwas konzentriertes Kollodium und 60° Alkohol zugießt. Auch läßt sich das Bakterioerythrin durch Schwefelkohlenstoff mit himbeerroter Farbe ausschütteln. „Nach der chemischen Natur ist Bakterioerythrin ein Lipochrom und kristallisiert nicht leicht und bleibt amorph. Aus verschiedenen Lipochromen steht ihm Zopfs Nectrum nahe.“

Die Annahme eines zweiten roten Farbstoffs neben dem Bakteriopurpurin ist meiner Meinung nach auf Grund der Untersuchungen des russischen Autors nicht berechtigt, ich wenigstens habe bei meinen Beobachtungen keinerlei Anhaltspunkte gefunden, die mir das Vorhandensein eines zweiten roten Farbstoffes neben dem Bakteriopurpurin angedeutet hätten.

Vieles, was ich in der Literaturübersicht geboten habe, hat nur mehr historischen Wert, da man der herrschenden Ansicht gemäß nur einen Farbstoff, und zwar einen roten, in den Zellen angenommen hat, während meine eigenen Untersuchungen, zu denen ich jetzt übergehe, zeigen, daß sich aus den Purpurbakterien zwei Farbstoffe, ein grüner und ein roter, gewinnen lassen.

[1]) Archichovskij, V., Zur Frage über das Bakteriopurpurin. Bulletin du Jardin Impérial Botanique de St. Pétersbourg. Tome IV. Livr. 4. 1904. Ein Referat darüber im Botan. Zentralbl. CXIX. 1905. S. 25.

Die zahlreichen Widersprüche, die sich in den Literaturangaben vorfinden, sind zum Teil darauf zurückzuführen, daß man die Eigenschaften der beiden Farbstoffe auf einen einzigen bezogen und diesen wegen Mangels an genügendem Material nur ganz oberflächlich kennen gelernt hat.

b) Eigene Untersuchungen.

Um möglichst exakte Resultate zu erzielen, war ich von vornherein bestrebt, den Farbstoff der Purpurbakterien in tadellosen Reinkulturen zu studieren. Als besonders geeignet erwies sich dazu die Bakterie Rhodobacillus palustris Molisch, die sich relativ rasch entwickelt und im Lichte eine intensiv rote Farbe annimmt. Um möglichst viel Material von Reinkulturen zu erhalten, wurden zahlreiche Kolben von 100—1000 cm³ mit Moldauwasser-Pepton-Glyzerin beschickt, sterilisiert, geimpft und an einem Südwestfenster, intensiver Beleuchtung ausgesetzt, stehen gelassen. Im Frühjahr und Sommer entwickeln sich die Bakterien nach 2—6 Monaten so üppig, daß die Gefäße einen ziemlich dicken, intensiv roten Bodensatz bilden, der aus einer Reinkultur der genannten Bakterie besteht. Von diesem Bodensatz wurde die darüber befindliche Flüssigkeit sorgfältig abgehebert, der Bodensatz selbst filtriert, in noch feuchtem Zustande mit wenig absolutem Alkohol übergossen und im Finstern stehen gelassen.

Nach einigen Stunden färbte sich der Alkohol zu meiner größten Überraschung stark grün, etwa so wie eine Chlorophyllösung.[1]) (Fig. 19, Taf. III.) Nach zwei- bis mehrmaliger Behandlung mit Alkohol läßt sich der grüne Farbstoff vollends ausziehen, wobei die Bakterien als eine mißfarbige, braunrote Masse zurückbleiben. Behandelt man nun diese gleich darauf mit Chloroform oder Schwefelkohlenstoff, so erhält man alsbald eine orangerote, bzw. eine hell karminrote bis granatrote Lösung. (Tafel III, Fig. 20.)

Es lassen sich daher aus unserer Purpurbakterie — und ich füge hinzu, daß sich die anderen darauf geprüften Rhodobakterien (Rhodobacterium capsulatum, Rhodospirillum-Arten, Chromatium) ebenso ver-

---

[1]) Bütschli gibt an (l. c. S. 10), daß er bei Behandlung von Chromatium mit Alkohol eine pfirsichblüh- bis ziegelrote Lösung erhielt. Ich habe mit absolutem Alkohol bei allen von mir untersuchten Purpurbakterien, auch mit Chromatium-Arten stets grüne Lösungen bekommen.

halten — zwei Farbstoffe gewinnen: ein grüner und ein roter. Für den roten behalte ich den bereits gebrauchten Namen „Bakteriopurpurin“ bei, den grünen nenne ich wegen seiner grünen Farbe „Bakteriochlorin“.

Der grüne Farbstoff oder das Bakteriochlorin.

Die Lösung in absolutem Alkohol hat eine dem Chlorophyll sehr ähnliche oder eine etwas spangrüne Farbe. (Fig. 19, Tafel III.) Sie unterscheidet sich aber von einer Chlorophyllösung schon äußerlich dadurch, daß sie fast gar nicht rot fluoresziert. Während eine Chlorophyllösung von annähernd gleich intensiver Färbung im Sonnenlichte stark rot fluoresziert, ist dies bei dem neuen Farbstoff nur in äußerst geringem Grade der Fall. Ich habe die Fluoreszenz überhaupt erst entdeckt, als ich mit der Linse im direkten Sonnenlichte beobachtete. Ich sah dann einen roten Strahlenkegel. —

Der grüne Farbstoff läßt sich mit Benzin, Olivenöl, Terpentinöl und Chloroform völlig aus der alkoholischen Lösung ausschütteln, die alkoholische Schicht wird hierbei farblos. Die alkoholische Bakteriochlorinlösung enthält auch etwas von Bakteriopurpurin, obwohl man dies der Lösung nicht ansieht. Wenn man aber die grüne Lösung unter großen Deckgläsern (4×5 cm) verdampfen läßt, so fällt der rote Farbstoff aus der Lösung in fester Form, häufig sogar in kleinen roten Kriställchen heraus.

Die schöne grüne Farbe, die Ausschüttelungsversuche und die schwache, rote Fluoreszenz könnten auf die Vermutung führen, daß man es beim Bakteriochlorin eigentlich mit Chlorophyll zu tun habe. Die spektroskopische Prüfung und manches andere spricht aber ganz dagegen, denn die grüne Lösung zeigt nicht das charakteristische Band I im Rot zwischen B und C (Fig. 1, Tafel IV) und weicht auch sonst im spektroskopischen Verhalten von einer Chlorophyllösung ab. Bei einer Schichtendicke von 2,5 mm taucht eine Endabsorption im äußersten Rot und äußersten Violett und dann ein schwach angedeuteter Streifen im Gelborange auf, den ich wegen seiner Lage auf der Natriumlinie von nun an als D-Streifen bezeichnen werde. (Fig. 2—4, Taf. IV.)

Bei 4 mm Schichtendicke wird das vorhin Angedeutete viel deutlicher, es reicht die

Endabsorption im Rot vom äußersten Rot . .		bis λ 650,
„ „ Violett vom äußersten Violett		„ λ 525,
der D-Streifen	von λ 610	„ λ 570.

Bei 10 mm Schichtendicke treten die Absorptionen noch intensiver in Erscheinung, es reicht die

Endabsorption im Rot vom äußersten Rot . . bis λ 650,
„ „ Violett vom äußersten Violett „ λ 535,
der D-Streifen . . . . von λ 615 „ λ 565.

Das Maximum der Absorption liegt beim D-Streifen auf etwa λ 600. Vgl. die Tafel IV, 2—4.

Das geschilderte Spektrum ist ein so eigenartiges und vom Chlorophyll so verschiedenes, daß ich nicht daran zweifeln kann, daß wir es hier mit einem neuen Farbstoff zu tun haben, womit aber nicht gesagt sein soll, daß zwischen Bakteriochlorin und Chlorophyll nicht auch verwandtschaftliche Beziehungen bestehen könnten. Die spektroskopischen Beobachtungen wurden durchweg mit dem Zeißschen Vergleichsspektroskop angestellt und zwar, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes bemerkt wird, im Lichte eines Auerbrenners.

Das Bakteriochlorin ist in alkoholischer Lösung sehr lichtempfindlich und zwar bedeutend empfindlicher als eine Lösung von Chlorophyll. Schon nach ½ Minute geht im direkten Sonnenlichte die grüne Färbung in eine braune über.

Die grüne alkoholische Bakteriochlorinlösung wird bei Zusatz von verdünnter Kalilauge alsbald mißfarbig braun, während eine Chlorophylllösung bekanntlich ihre grüne Farbe bei Zusatz von Kalilauge behält.

Wenn man die alkoholische Bakteriochlorinlösung sukzessive mit Wasser versetzt, so verfärbt sich die Lösung unter Trübwerden zunächst spangrün und im auffallenden Lichte bläulichgrün. Nach etwa 24 Stunden wird der Farbenton im Finstern bläulichgrau und nach weiteren 2—3 Tagen rötlichbraun.

Das Bakteriochlorin gibt meine Chlorophyllreaktion[1]) nicht, denn gesättigte Kalilauge färbt dauernd braun. Auf Zusatz von verdünnter Salzsäure wird Bakteriochlorin gleichfalls mißfarbig braun wie Chlorophyll, während aber das Blattgrün mit relativ viel konzentrierter Salzsäure spangrün wird, ist dies bei Bakteriochlorin nicht der Fall. Alle diese Tatsachen sprechen gleichfalls dafür, daß wir es im Bakteriochlorin mit einem vom Chlorophyll verschiedenen Körper zu tun haben und deshalb wird es berechtigt erscheinen, wenn ich diesem Körper auch einen besonderen Namen gegeben habe.

Der rote Farbstoff oder das Bakteriopurpurin.

Es sei gleich bemerkt, daß das Bakteriopurpurin laut der spektroskopischen Untersuchung nicht bei allen Purpurbakterien identisch ist.

[1]) Molisch, H., Eine neue mikrochemische Reaktion auf Chlorophyll. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1896, S. 16.

sondern daß sich zwei einander nahestehende Modifikationen unterscheiden lassen, die als Bakteriopurpurin α und Bakteriopurpurin β unterschieden werden sollen. Sie differieren etwas durch die Lage der Bänder.

Das Spektrum des Bakteriopurpurins α. (Vgl. Tafel IV, 5, 6.) Der Farbstoff rührte aus einer Reinkultur von Rhodobacillus palustris her. Hat man den grünen Farbstoff mit Alkohol entzogen und behandelt man dann die Bakterienmasse mit Schwefelkohlenstoff, so erhält man alsbald eine prachtvoll karminrote Lösung. (Fig. 20, Taf. III.) Bei einer Schichtendicke von etwa 10 mm erscheint das Spektrum in absteigendem Maße vom äußersten Violett bis inklusive Blau verwaschen. Außerdem treten zwei deutliche Bänder auf (I und II)

Band I λ 585 — λ 555
Band II λ 540 — λ 515.

Im starken Sonnenlichte glaube ich noch ein drittes aber ganz schwach angedeutetes Band gesehen zu haben, das etwa zwischen λ 500 — λ 485 liegt. Ich betone, daß dieses Band sehr undeutlich ist und ich werde es daher weiterhin nicht besonders berücksichtigen.

Das Band I des Bakteriopurpurins beginnt bei Prüfung einer dünnen Schicht etwa dort, wo der D-Streifen des Bakteriochlorins endet; da aber bei dickeren Schichten der D-Streifen sich nach rechts und das Band I des Bakteriopurpurins nach links verbreitert, so liegen diese beiden Bänder dann teilweise übereinander. —

Das Bakteriopurpurin α, gelöst in Chloroform, hat nicht dieselbe Farbe wie die entsprechende Lösung in Schwefelkohlenstoff, sondern eine bräunlich karminrote. Das Spektrum — siehe Tafel IV, 6 — gleicht dem in Schwefelkohlenstoff, doch sind die beiden charakteristischen Bänder I und II gegen Violett etwas verschoben, was offenbar durch die Verschiedenheit des Lösungsmittels bedingt ist. Ich fand die Lage der Bänder bei einer etwa 10 mm dicken Schicht wie folgt:

Band I λ 560 — λ 530
Band II λ 520 — λ 485.

Das Spektrum des Bakteriopurpurins β. (Vgl. Tafel IV, 7—10.) Der Farbstoff rührte von einer Rhodospirillum-Spezies her. Wenn man eine 8 mm dicke Schicht einer Lösung in Schwefelkohlenstoff im direkten Sonnenlichte betrachtet, so sieht man, abgesehen davon, daß Violett etwas verwaschen erscheint, zwei deutliche Bänder

Band I λ 560 — λ 535
Band II λ 510 — λ 490.

Die stärkste Absorption liegt nach der Schätzung mit dem Auge im Streifen I etwa bei 545 und in II bei 500.

Bei 15 mm Schichtendicke tritt die Trübung im Blauviolett noch stärker hervor, bis etwa 460, die beiden Bänder erscheinen noch schärfer, ihre Lage ist jetzt:

Band I λ 560 — λ 535
Band II λ 520 — λ 490.

Dazu gesellt sich nun ein eben noch erkennbares 3. Band (III) λ 480 — λ 460. Vgl. bez. dieser Spektra Tafel IV, 7—8. —

Die Lösung in Chloroform, die eine orangerote bis braunrote Farbe besitzt, zeigt in 2 mm dicker Schicht das äußerste Violett bis etwa λ 460 etwas verwaschen. Dann sieht man zwei deutliche Bänder:

Band I λ 530 — λ 510
Band II λ 500 — λ 480.

Bei 10 mm Dicke wird die Verdunkelung in Violett intensiver, die Streifen I und II werden auch dunkler und, wenn ich im direkten Sonnenlichte beobachtete, so schien mir noch ein äußerst schwacher Streifen, den ich schon früher erwähnte, aufzutauchen, der beiläufig zwischen λ 463 — λ 448 liegt.

Die Maxima der Absorption liegen ungefähr bei λ 510 (I), λ 487 (II) und λ 458 (III), die Streifen I und II treten ziemlich gleichzeitig und annähernd gleich stark auf. Vgl. Tafel IV, 9—10.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß die Spektra der beiden Bakteriopurpurinmodifikationen α und β sich dadurch unterscheiden, daß die charakteristischen Bänder des Bakteriopurpurins α bei Bakteriopurpurin β etwas gegen Violett verschoben sind. —

Ferner zeigte es sich, daß bei beiden Farbstoffmodifikationen das Lösungsmittel einen gleichsinnigen Einfluß auf die Lage der Streifen ausübt, indem die Bänder der Schwefelkohlenstofflösung in der Chloroformlösung etwas gegen Violett verschoben sind.

In guter Übereinstimmung mit den Befunden über die Spektra des grünen und roten Farbstoffs, wie ich sie eben geschildert habe, steht auch das Spektrum der lebenden Purpurbakterien (Taf. IV, 11—12).

Massenkulturen, die einen dicken roten Bodensatz bilden, eignen sich besonders zum Studium des Bakterienspektrums. Auch die eingetrocknete, auf einem Objektträger von selbst haftende Bakterienmasse, die eine stark rote Schicht bilden muß, eignet sich vorzüglich zu spektroskopischen Untersuchungen, zumal sie auch nahezu unbegrenzt haltbar ist.

Verwendet man eine dichte Rhodospirillumaufschwemmung in der Kulturflüssigkeit oder in reinem Wasser bei einer Schichtendicke von etwa 3 mm, so sieht man eine schwache Endabsorption im Rot bis 675 und eine stärkere im äußersten Violett bis Blau. Außerdem treten zwei deutliche Streifen auf und bei Betrachtung im direkten Sonnenlichte noch ein dritter eben noch wahrnehmbarer.

Band I λ 600 — λ 580 (D-Streifen),
Band II λ 560 — λ 540,
Band III λ 520 — λ 490.

Band I tritt zuerst auf und ist am deutlichsten. Es liegt auf der Natriumlinie. Es ist der D-Streifen.

Band II ist bei dickerer Flüssigkeitsschicht (5—10 mm) gut zu sehen, er ist gegen das rote Ende ziemlich scharf abgesetzt, gegen die entgegengesetzte Seite aber mehr verschwommen.

Band III konnte ich überhaupt nur im direkten Sonnenlichte mit ausgeruhtem Auge in geringer Deutlichkeit beobachten.

Bringt man die Spektren des Bakteriochlorins und des Bakteriopurpurins (in Schwefelkohlenstoff) zur Deckung, so resultiert dann so ziemlich das Spektrum der lebenden Bakterien. Kleinere Abweichungen, wie die etwas größere Ausbreitung des D-Streifens im Bakteriochlorinspektrum und das schärfere Hervortreten der Bänder in den reinen Lösungen, dürfen wohl in Anbetracht der verschiedenen Verhältnisse, wie sie bei Betrachtung von Lösungen und lebenden Zellen geboten sind, nicht wundernehmen.

Sowie für das Chlorophyll das Band I im Rot zwischen den Fraunhoferschen Linien B und C charakteristisch ist, so ist für das Spektrum lebender Purpurbakterien der Streifen auf der Fraunhoferschen Linie D ungemein bezeichnend. Mag man eine Aufschwemmung welcher Art von Purpurbakterien auch immer spektroskopisch betrachten, immer tritt der Streifen bei genügender Bakterienmenge auf. Bisher hat man es als selbstverständlich angenommen, daß **der D-Streifen** dem roten Farbstoff der Purpurbakterien angehört, dies ist aber, wie wir auf Grund der zum ersten Male durchgeführten Trennung von Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin gesehen haben, nicht der Fall, da der D-Streifen seinen Ursprung dem Bakteriochlorin verdankt.

Untersucht man anstatt des Rhodospirillum eine Aufschwemmung des Rhodobacillus palustris in Reinkultur, der, wie wir wissen, nicht wie das rote Spirillum Bakteriopurpurin β, sondern die Modifikation α

enthält, so erscheint das Spektrum dem des Rhodospirillum im wesentlichen gleich, man findet nur die Absorptionsbänder des Bakteriopurpurins, entsprechend der hier vorkommenden Modifikation α etwas gegen Rot verschoben.

Man kann sich auch auf mikroskopischem Wege leicht von der Anwesenheit des Bakteriochlorins und des Bakteriopurpurins überzeugen. Man bringt zu diesem Zwecke eine große, möglichst intensiv gefärbte Flocke oder den Bodensatz einer Reinkultur von Rhodobacillus palustris auf einen Objektträger, läßt eintrocknen, bedeckt mit einem Deckglas und füllt dann vom Rande aus den zwischen Objektträger und Deckglas befindlichen Raum mit absolutem Alkohol aus. Es ist zweckmäßig, das Deckglas einseitig durch ein feines Glaskapillarröhrchen zu stützen, der Flüssigkeitsraum wird hierdurch keilförmig und der Farbstoff wird beim Verdampfen des Lösungsmittels größtenteils gegen die Schmalseite des Raumes gedrängt, so daß er sich vorzugsweise an einer Kante des Deckglasrandes anhäuft. Bei Anwendung von absolutem Alkohol scheidet sich am Deckglasrande das Bakteriochlorin in grünen Tropfen aus, daneben kann sich auch etwas Bakteriopurpurin in Form von Tröpfchen oder kleinen roten Kriställchen absondern.

Verwendet man aber anstatt Alkohol Chloroform, so treten fast nur rote Tröpfchen auf, die beim Verdampfen oft Hunderte von roten Kristallen oder Kristallaggregaten des Bakteriopurpurins liefern. Von dem grünen Farbstoff erscheint nur wenig oder gar nichts. Bei diesen Prozeduren erleidet die Bakterienmasse eine Verfärbung. Die rote Farbe verschwindet und die Bakterienmasse nimmt dabei vorübergehend (unterm Mikroskop betrachtet) eine sehr helle, schmutzig bläulichgrüne oder eine schmutzig braune Farbe an.

Die Bakterien sind mitunter von eingetrocknetem Schleim oder der Gelatine so umhüllt, daß die Lösungsmittel nicht eindringen und wirkungslos bleiben. In diesem Falle muß man vor Anwendung des Alkohols etwas mit Wasser befeuchten.

Aus den vorstehenden Beobachtungen geht hervor, daß man selbst aus kleinen Mengen von Bakterien die beiden charakteristischen Farbstoffe auf mikroskopischem Wege gewinnen kann. Auch zeigt sich, wie ich bereits früher auf Grund von Ausschüttelungsversuchen bemerkt habe, daß mit Alkohol und Chloroform bzw. Schwefelkohlenstoff nicht eine quantitative Scheidung der beiden Farbstoffe erfolgt, sondern nur eine beiläufige, etwa so wie bei der Ausschüttelung einer Rohchlorophyllösung mit Benzin die Trennung von Chlorophyll und

Karotin auch nur annähernd eintritt. Namentlich die alkoholische Bakteriochlorinlösung, wie sie von mir durch direkte Extraktion der lufttrockenen Bakterienmasse gewonnen wird, enthält nicht ganz unbedeutende Mengen von Bakteriopurpurin. Man kann sich davon auch leicht dadurch überzeugen, daß man eine grüne alkoholische Bakteriochlorinlösung unter sehr großen Deckgläsern (4 × 5 cm) verdampfen läßt. Dann scheidet sich der grüne Farbstoff in mehr minder tiefgrünen Tropfen oder Ballen aus (die manchmal an Myelinbildungen erinnern), daneben treten aber auch rote Zonen von sehr kleinen aber zahlreichen Kriställchen des roten Farbstoffs auf. Um die Kristalle des Bakteriopurpurins in großer Zahl und in relativ bedeutender Größe zu erhalten, ließ ich Chloroform auf eingetrocknete reine Bakterienmassen unter Deckglas einwirken. Besonders bei Herstellung des oben erwähnten keilförmigen Raumes entstehen an seiner Schmalseite am Deckglasrande prachtvoll rote Kristalle von Bakteriopurpurin. So gewonnen sind die Kristalle meistens nadel-spindelförmig, an beiden Enden zugespitzt und ziemlich flach. Auch unregelmäßig geformte Schüppchen oder Blättchen kommen vor. Bei mehr Substanz bilden sich oft sternartig oder baumartig verzweigte Aggregate, wie dies die Figur 18, Tafel III versinnlicht.

Die Kristalle haben eine lachsrote oder bräunlichrote Farbe. Sie ist bald heller bald dunkler, je nach der Lage. Liegt der Kristall auf der Fläche, so ist er hellrosa, liegt er auf der Kante, so erscheint er dunkler. Ihre Größe schwankt zwischen 1—170 μ.

Sie sind unlöslich in Wasser und Glyzerin. Schwer löslich in kaltem absoluten Alkohol. Sehr leicht löslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Äther. In kaltem Eisessig so gut wie unlöslich, hingegen verschwinden sie in heißem. Mit reiner Schwefelsäure nehmen sie eine tief indigblaue bis blauviolette Farbe an so wie Karotinkristalle. Vorübergehend blau färben sie sich auch mit konzentrierter Salpetersäure. Mit Jodjodkaliumlösung nehmen sie sehr langsam eine trübe, schmutziggrüne Farbe an.

Starkes Bromwasser färbt die Kristalle rasch vorübergehend blau und macht sie dann farblos.

In den eben angeführten Reaktionen stimmen die Bakteriopurpurinkristalle mit Karotinkristallen ziemlich überein, so in dem Verhalten gegen Schwefel-, Salpetersäure, Jod und Brom.

Das Spektrum ist von dem des Daucus- und Blattkarotins verschieden, hingegen weniger different von dem Karotinspektrum, wie

es Zopf[1]) von niederen Pflanzen, z. B. von Nectria cinnabarina angibt. Übereinstimmend habe ich das Bakteriopurpurinspektrum mit keinem bekannten Karotinspektrum gefunden, aber das darf bei der großen Verschiedenheit der Karotine gar nicht überraschen, gibt es doch Karotine, die nur 1, andere die 2 und schließlich solche, welche 3 bis 4 Bänder aufweisen[2]). Wenn ich die gesamten Eigenschaften des Bakteriopurpurins: seine Löslichkeit, sein Verhalten gegen konzentrierte Schwefel-, Salpetersäure usw., seine Kristallisierbarkeit und seine Lichtempfindlichkeit in Betracht ziehe, so kann ich mich der Vermutung nicht verschließen, daß man es hier mit einem dem Karotin — als Gruppenbegriff im weitesten Sinne genommen — nahestehenden oder einem Karotin selbst zu tun hat.

Daß man beim Bakteriopurpurin bisher gewöhnlich nicht an Karotin gedacht hat, erscheint begreiflich, da man ja stets Gemische von Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin untersucht hat, daher das Spektrum eines Gemisches vor sich gehabt hat, das allerdings ein vom Karotin wesentlich verschiedenes Spektrum aufwies. Jetzt aber, da wir wissen, daß der D-Streifen dem Bakteriopurpurin gar nicht angehört, liegt die Sache freilich anders.

Künftige Forschung wird, wenn es einmal gelingen sollte, sich reines Untersuchungsmaterial mittelst der Reinkulturen in noch größeren Mengen zu verschaffen und makrochemische Analysen zu machen, zeigen, ob meine Ansicht berechtigt ist oder nicht.

Ich bin mir wohl bewußt, daß auch die vorliegenden Untersuchungen noch in vielfacher Beziehung lückenhaft sind. Wenn ich auch mehr Material hatte als meine Vorgänger, so war es doch, da ich meine Untersuchungen, wenn nur irgend möglich, auf Reinkulturen stützte, noch relativ spärlich, denn die Purpurbakterien wachsen im allgemeinen sehr langsam und geben eine geringe Ernte. Man bedenke, wie leicht Chlorophyll in großen Mengen zu haben ist und wie unvollkommen unsere Kenntnisse über diesen Farbstoff trotz der kolossal angeschwollenen Literatur noch heute sind. Um wie viel schwieriger muß sich daher die Untersuchung bei einem in größeren Mengen so schwer beschaffbaren Körper gestalten. Trotz dieser Schwierig-

[1]) Zopf, W., Zur Kenntnis der Färbungsursachen niederer Organismen. In den Beitr. z. Physiol. u. Morphologie niederer Organismen, III. Heft, 1893, S. 44.

[2]) Derselbe, Ebenda, I. Heft, S. 36. Vgl. auch Kohl, F. G., Untersuchungen über das Karotin usw., Leipzig 1902, S. 36 ff.

keit dürfen nun mehr eine Reihe von Tatsachen und als Hauptergebnisse folgende Punkte als gesichert gelten:

1. Aus den untersuchten Purpurbakterien lassen sich zwei Farbstoffe gewinnen: ein grüner, das Bakteriochlorin und ein roter, das Bakteriopurpurin. Beide sind durch sehr charakteristische Spektren ausgezeichnet, der grüne ist verschieden von Chlorophyll und der rote, der sehr leicht in kristallisierter Form gewonnen werden kann, ist wahrscheinlich ein karotinartiger Körper (Karotin als Gruppenbegriff gefaßt).

2. Das für das Spektrum lebender Purpurbakterien charakteristische Absorptionsband auf der D-Linie gehört dem Bakteriochlorin an und nicht, wie man bisher allgemein geglaubt hat, dem Bakteriopurpurin.

3. Niemals fanden sich bei Purpurbakterien nachweisbare Spuren von Chlorophyll, was in vollkommenem Einklang mit der von mir festgestellten Tatsache steht, daß die Purpurbakterien, entgegen der herrschenden Ansicht, Kohlensäure nicht zu assimilieren vermögen.

Die natürliche Farbe der Purpurbakterien und die Verteilung des Farbstoffes in der Zelle.

Bekanntlich sind die Farbentöne der Purpurbakterien recht verschieden: purpurn, pfirsichblührot, karminrot, violett, rosa, weinrot, braunrot usw. Schon Winogradsky[1]) hat darauf aufmerksam gemacht, daß ein und dieselbe Art je nach den Kulturbedingungen in der Farbe variieren kann und er sowie Cohn, Warming und Ray Lankester haben schon den allmählichen Umschlag der pfirsichblühroten Färbung der Bakterienüberzüge in eine braunrote bei altgewordenen Massenkulturen hervorgehoben.

Winogradsky gibt an, daß die Chromatien unter günstigen Bedingungen bei genügendem Zufluß von Schwefelwasserstoff und lebhaftem Wachstum eine sehr gesättigte rotviolette Färbung zeigen. Bei Abnahme des Schwefelwasserstoffes und damit verknüpftem reichlicherem Zuströmen von Sauerstoff beginne die Verfärbung. Sie sei unzweifelhaft auf die allmähliche Verarmung der Flüssigkeit an Schwefelwasserstoff und gesteigerten Luftzutritt zurückzuführen. Außerdem zieht Winogradsky aus seinen Beobachtungen den Schluß, daß das Bakteriopurpurin ein leicht oxydabler Körper sei, der nur bei Luftabschluß oder

[1]) Winogradsky, S. Beiträge usw. l. c. S. 47.

bei Gegenwart reduzierender Substanzen, wie Schwefelwasserstoff, gebildet und erhalten werden kann. Meiner Meinung nach sind die Tatsachen, auf welche sich der genannte Forscher stützt, noch nicht ausreichend für die erwähnten Schlüsse. Zunächst möchte ich darauf hinweisen, daß sowohl das Bakteriochlorin als auch das Bakteriopurpurin, im Finstern der Luft ausgesetzt, wochenlang ihre Farbe behalten, daß diese Körper also trotz des Luftzutrittes bestehen können. Im Lichte wurden sie allerdings sehr rasch zerstört. Ferner habe ich Purpurbakterien, z. B. Rhodobacillus palustris und Rhodobacterium capsulatum, entdeckt, die auch an der Luft, also bei reichlichem Luftzutritt, ihre Farbstoffe ausbilden können. Obwohl ich dem Schwefelwasserstoff bei der Färbung und Verfärbung einen Einfluß nicht absprechen will, glaube ich doch, daß hierbei noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Da wir in den Purpurbakterien, wie wir jetzt wissen, zwei Farbstoffe annehmen müssen, einen grünen und einen roten, so wird schon dadurch, daß bald der eine, bald der andere in größerer Menge gebildet werden kann, ein verschiedener Farbenton zustande kommen müssen. Beide Farbstoffe werden in Lösungen außerhalb der Zelle leicht im Lichte zerstört. Möglicherweise trifft dies bis zu einem gewissen Grade auch in der intakten Zelle zu, Farbstoffbildung und Farbstoffzerstörung werden dann eine Resultierende geben, die auch in einer bestimmten Farbennuance ihren Ausdruck finden wird.

Auch die mehr oder minder große Anhäufung von Schwefelkörnchen wird beim Zustandekommen des Farbentons eine Rolle spielen müssen. Die mit Schwefel angereicherten Chromatien verleihen der Flüssigkeit das Aussehen einer rosenrot gefärbten Schwefelmilch und dasselbe läßt sich auch von den mit Schwebekörperchen erfüllten Purpurbakterien (Rhodocapsa und Rhodothece) sagen. Der Schwefel erscheint bekanntlich in so fein verteilter Form weiß und muß daher den roten Bakterienzellen jedenfalls einen helleren Farbenton verleihen. Auch muß man sich erinnern, daß das Bakteriopurpurin bei den verschiedenen Rhodobakterien nicht immer ganz identisch ist und daß wir zum mindesten zwei Modifikationen unterscheiden müssen. Aus den angeführten Gründen dürfen wir uns nicht wundern, wenn die verschiedenen Rhodobakterien in sehr verschiedenen Farbennuancen auftreten können.

Ich komme nun schließlich auf die Verteilung des Farbstoffs in der lebenden Zelle zu sprechen.

Bei größeren Purpurbakterien, z. B. bei Rhodospirillum giganteum, Rh. photometricum oder Chromatium kann man die einzelne lebende Zelle unterm Mikroskop schwach rötlich gefärbt sehen. Kleinere oder

sehr kleine Rhodobakterien erscheinen einzeln farblos, erst wenn man sie in die Lichtfalle oder chemotaktisch in das Kapillarröhrchen lockt, so daß sie in dichtem Schwarme auf engem Raume neben- und übereinander liegen, tritt ihre rote Farbe deutlich hervor. Ist die Farbe an der einzelnen Zelle oder an den Bakterienhaufen zu sehen, so ist sie stets rot, von dem grünen Farbstoff kann man direkt nichts wahrnehmen. Ob Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin auf das innigste gemischt sind oder ob eine lockere chemische Bindung zwischen beiden besteht, ist mit Sicherheit sehr schwer zu entscheiden.

Bütschli[1]) will beobachtet haben, daß das Bakteriopurpurin nur auf eine in ihrer Dicke wechselnde periphere Rindenschicht beschränkt ist, während der zentrale Hauptteil des Körpers keinen Farbstoff enthält. Auch soll der Farbstoff in der äußeren Schichte nicht diffus verteilt sein, sondern ein deutliches Netzwerk unter der Membran bilden, ja Bütschli will sich sogar mehrmals überzeugt haben, daß der rote Farbstoff das Plasmagerüst nicht diffus durchtränkt, sondern feinkörnig eingelagert ist.

Auch Bütschlis Schüler, F. Förster[2]), stellt sich bezüglich der Verteilung des Farbstoffs ganz auf die Seite seines Lehrers, während Mitrophanow[3]) und A. Fischer[4]) die Ansicht vertreten, daß der Farbstoff nicht bloß in der Rinde sitze, sondern auch den ganzen inneren Bakterienkörper durchdringe. Die genannten Forscher haben fast ausschließlich Chromatien untersucht, meine eigenen, sich auf die verschiedensten Purpurbakterien erstreckenden Beobachtungen haben sowohl für die schwefelkörnchenführenden als auch für die davon stets freien ergeben, daß der Farbstoff nicht auf eine Rindenschicht beschränkt ist, sondern den ganzen Zellinhalt durchsetzt. Chromatium Okenii[5]), Rhodospirillum giganteum und Rh. photometricum eignen sich für derartige Beobachtungen der bedeutenden Größe wegen ausgezeichnet, trotzdem konnte ich hier selbst mit den besten Immersionen von Zeiß eine Beschränkung des Farbstoffs auf eine periphere

---

[1]) Bütschli, O., l. c., S. 9ff.

[2]) Förster, F., Über eine merkwürdige Erscheinung bei Chromatium Okenii Ehrbg., Zentr. f. Bakt. usw., XI. Bd., 1892, S. 257.

[3]) Mitrophanow, Étude sur l'organisation des Bactéries, Internation. Monatsschr. f. Anat. u. Phys., X. Bd., 1893. Zitiert nach A. Fischer.

[4]) Fischer, A., Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. S. 74ff.

[5]) Diese riesige, unterm Mikroskop deutlich rot erscheinende Bakterie nebst anderen verdanke ich Herrn Dr. F. Ruttner, der sie im Lunzer See (Nieder-Österreich) zwischen faulenden Charen gefunden hat.

Rindenschicht nicht feststellen. Bei Chromatien des süßen und des marinen Wassers, welche ich im Laufe der drei letzten Jahre unter den Händen hatte, sah ich die Verteilung des Farbstoffs, so wie sie A. Fischer für Chromatium beschrieb.

Nicht unerwähnt will ich lassen, daß lebende Rhodobakterien ihre Farbstoffe im Gegensatze zu manchen anderen chromogenen Bakterien, soweit meine bisherigen Beobachtungen reichen, niemals ausscheiden.

c) Bedeutung der Farbstoffe.

Zum Schlusse wollen wir noch der Frage etwas näher treten, ob den Farbstoffen irgend welche Bedeutung im Leben der Purpurbakterien zukommt, und wenn, welcher Art sie ist.

Winogradsky, der sich für diese Frage auch schon interessiert hat, sagt: „Gerade die interessanteste Frage, nämlich die über die Bedeutung des Bakteriopurpurins für das Leben dieser Organismen, blieb vollständig rätselhaft.“ [1])

Engelmann glaubte, wie schon früher auseinandergesetzt wurde, daß die Purpurbakterien Kohlensäure unter gleichzeitiger Sauerstoffentbindung im Lichte sowie grüne Zellen assimilieren und daß das Bakteriopurpurin hierbei dieselbe Rolle spiele wie das Chlorophyll. „Die Purpurbakterien treten somit in den Kreis der nach Art der grünen Gewächse assimilierenden Organismen ein. Das Bakteriopurpurin ist ein echtes Chromophyll, insofern es in ihm absorbierte aktuelle Energie des Lichts in potentielle, chemische Energie verwandelt.“ [2])

Meine Untersuchungen aber haben gelehrt, daß die Rhodobakterien Kohlensäure unter gleichzeitiger Sauerstoff-Exhalation nicht assimilieren, somit kann dem Bakteriopurpurin logischerweise eine derartige Rolle, wie sie Engelmann dem Farbstoffe zuschreibt, nicht zukommen.

Die Purpurbakterien stellen eine physiologische Gruppe von Bakterien dar, die im Gegensatz zu anderen farblosen und gefärbten Schizomyzeten besondere Anpassungen an das Licht zeigen. Die früheren Kapitel haben uns darüber mancherlei Aufschluß gegeben. In die Augen springend ist schon der von Engelmann festgestellte Einfluß des Lichtes auf ihre Bewegungen. Im Finstern stellen die Purpurbakterien bald früher bald später ihre Bewegungen ein, im Lichte

[1]) Winogradsky, S., Beiträge, l. c., S. 50.

[2]) Engelmann, Th. W., Die Purpurbakterien usw., l. c. S. 701.

werden ihre Bewegungen wieder erweckt. Was Engelmann darüber in seiner an physiologisch interessanten Tatsachen reichen Abhandlung sagt, kann ich im wesentlichen bestätigen. Wenn Winogradsky[1]) einen Fall bei Chromatium beschreibt, in welchem lebhaftes Schwärmen auch im Dunkeln eintrat, so mag dies ja vorkommen, es ändert aber nichts an der Tatsache, daß das Licht einen wirklich hervorragenden Einfluß auf die Wiedererweckung der in Dunkelstarre befindlichen Bakterien hat, desgleichen auf ihre Geschwindigkeit, auf die „Schreckbewegung" und ihre Ansammlung in der Lichtfalle. Dazu kommt dann das von mir festgestellte Faktum, daß die Purpurbakterien auch bezüglich ihrer Ernährung vom Lichte vielfach abhängig sind, daß sie organische Nahrung unbedingt notwendig haben und daß sie diese unter gewissen Bedingungen nur bei Gegenwart von Licht zu assimilieren vermögen, oder daß das Licht hierbei wenigstens eine begünstigende Rolle spielt. Da nun unter allen bisher bekannt gewordenen Bakterien nur die Purpurbakterien diese Eigentümlichkeiten aufweisen und da auch nur sie die beiden Farbstoffe, das Bakteriochlorin und das Bakteriopurpurin, führen, so wird wohl das Zusammentreffen dieser Eigenschaften schwerlich ein Zufall genannt werden dürfen. Es liegt vielmehr der Schluß nahe, daß zwischen der Assimilation der organischen Substanz, dem Lichte und den Farbstoffen irgend ein Zusammenhang besteht.

Vom phylogenetischen Standpunkte scheint es mir, als ob die Purpurbakterien eine Zwischenstufe darstellen würden zwischen den farblosen Bakterien, die die organische Substanz ohne jede Mitwirkung des Lichtes ausgezeichnet verarbeiten und den grünen Organismen, die sich bezüglich der Assimilation ganz an das Licht angepaßt und von der Ernährung mit organischer Substanz ganz unabhängig gemacht haben. Die Purpurbakterien ähneln den meisten gewöhnlichen Bakterien darin, daß sie zwar im Finstern auch noch organische Stoffe assimilieren können, den grünen Organismen aber nähern sie sich wieder insofern, daß sie sich an das Licht angepaßt und gelernt haben, mit Hilfe des Lichtes in ausgiebigerer und besserer Weise organische Körper zu verarbeiten. Bei dieser Fähigkeit sind sie vorläufig stehen geblieben, im Gegensatz zu den grünen Lebewesen haben sie sich noch nicht von der organischen Substanz unabhängig gemacht, denn sie sind nicht imstande, Kohlensäure unter Sauerstoffentbindung zu verarbeiten. —

Wer die Wiedererweckung der Bewegung durch das Licht bei den

[1]) Winogradsky, l. c. S. 91.

Purpurbakterien beobachtet, ihr lebhaftes Schwärmen im Lichte und ihr allmähliches Ruhigwerden bei Verdunkelung, der wird unwillkürlich auf den Gedanken kommen, daß die Rhodobakterien im Lichte aus der organischen Substanz einen Stoff bilden, der ihnen die Bewegung gestattet und dessen Vorrat ihnen noch in der Dunkelheit einige Zeit die Bewegung ermöglicht.[1])

Daß gerade ein grüner und ein roter karotinartiger Farbstoff den Purpurbakterien eigentümlich ist, und daß bei den grünen Organismen ebenfalls zwei ähnlich gefärbte Pigmente auftreten, ist eine höchst auffallende Erscheinung, die darauf hindeutet, daß möglicherweise das Bakteriochlorin und das Bakteriopurpurin bei der Überführung der organischen Stoffe in die Körpersubstanz eine ähnliche Rolle spielen, wie Chlorophyll und Karotin bei der Kohlensäureassimilation im Chlorophyllkorn. —

Wie nun die Purpurbakterienfarbstoffe in die Assimilation der organischen Substanz im Lichte eingreifen, entzieht sich vorläufig völlig unserer Beurteilung, ich wage es nicht einmal, darüber Vermutungen auszusprechen; denn selbst bei der Kohlensäureassimilation der grünen Pflanze, einem Prozesse, der ja schon lange viele der hervorragendsten Physiologen beschäftigt hat, ist uns die Chlorophyllfunktion nur beiläufig bekannt. Ich muß mich vielmehr derzeit begnügen, das Eine sicher gestellt zu haben, daß die Ernährungsversuche mit Purpurbakterien uns mit einer neuen Art von Photosynthese bekannt gemacht haben, bei der **organische** Substanz im Lichte assimiliert wird, und wobei die beiden Farbstoffe, das Bakteriochlorin und Bakteriopurpurin vielleicht eine analoge Rolle spielen dürften wie Chlorophyll und Karotin bei der Kohlensäureassimilation der grünen Zelle.

[1]) Vgl. auch Engelmann, l. c., S. 665.

Autorenregister.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

Fig. 1. Rhodobacillus palustris Molisch. Reinkultur von einer Gelatineplatte. Vergr. 500.

Fig. 2. Derselbe aber aus einer Reinkultur in Flußwasser-Pepton-Dextrin. Die Zellen werden hier bedeutend größer. Vergr. 500.

Fig. 3. Rhodobacterium capsulatum Molisch. Präparat gefärbt in Methylenblauwasser und darin photographiert. Reinkultur. Vergr. 1000.

Fig. 4. Dasselbe, in flüssiger Tusche liegend, um die Schleimkapsel zu zeigen. Vergr. 1000.

Fig. 5. Rhodospirillum photometricum Molisch. Lebende Reinkultur, unter Deckglas bei Luftabschluß in Peptonagar kultiviert. Vergr. 300.

Fig. 6. Rhodospirillum photometricum Molisch. Geißelfärbung nach Peppler. Vergr. 500

Fig. 7. Rhodospirillum giganteum Molisch. Geißelfärbung nach Peppler. Vergr. 500.

Fig. 8. Rhodocystis gelatinosa Molisch. Die lebenden Kolonien in flüssiger Tusche liegend, um den Schleimhof zu zeigen. Vergr. zirka 400.

Tafel II.

Fig. 9. Rhodonostoc capsulatum Molisch. Lebend in flüssiger Tusche, um den Schleimhof zu zeigen. Vergr. 300.

Fig. 10. Rhodovibrio parvus Molisch. Geißelfärbung nach Peppler. Bei einer Zelle ist eine lange Geißel zu sehen, etwas retouchiert. Vergr. 500.

Fig. 11. Rhodocapsa suspensa Molisch im Meerwasser. Vergr. 300.

Fig. 12. Dieselbe Bakterie in flüssiger Tusche liegend, um den Schleimhof zu zeigen. Die Kammerung des Protoplasmas infolge der Airosomen ist schon bei dieser Vergrößerung angedeutet. Vergr. 300.

Fig. 13. Rhodothece pendens Molisch. Nach Entfernung des Schwefels und der Airosomen mit Fuchsin gefärbt. Vergr. zirka 600.

Fig. 14 Dieselbe Bakterie, lebend, in Tuscheflüssigkeit liegend, um den Schleimhof zu zeigen.

Fig. 15. Rhodococcus capsulatus Molisch. Lebend, in flüssiger Tusche, um den Schleimhof zu zeigen. Vergr. zirka 500.

Fig. 16. Deckglaspräparat von Rhodospirillum photometricum Molisch, mit Terpentinlack verschlossen. (Photographie.) Der helle Kreis in der Mitte stellt eine ungeheure Ansammlung der Bakterien vor, die durch intensives Licht in die Lichtfalle gelockt wurden. Etwas verkleinert. Vgl. den Text auf S. 37.

Fig. 17. Schattenfigur eines auf das Deckglaspräparat aufgelegten Stanniolkreuzes, hervorgerufen durch Rhodospirillum photometricum Molisch (Photographie). Die ungemein dicht herumwimmelnden Bakterien geben sich dem freien Auge durch ihre rötliche Farbe zu erkennen. So wie das Kreuz aufgelegt wird, wandern sie aus dem Schatten des Kreuzes aus, die rötliche Farbe verschwindet unter dem Kreuz und infolgedessen gibt sich die ursprüngliche Schattenfigur nach dem Abheben des Stanniolkreuzes durch das bakterienleere Terrain zu erkennen. Etwas verkleinert. Vgl. den Text auf S. 38.

Tafel III.

Fig. 18. Bakteriopurpurinkristalle aus Chloroformlösung von Rhodospirillum. Vergr. 250.

Fig. 19. Farbe der alkoholischen, aus Rhodobacillus palustris gewonnenen Bakteriochlorinlösung.

Fig. 20. Farbe der aus Rhodobacillus palustris gewonnenen Bakteriopurpurinlösung im Schwefelkohlenstoff.

Tafel IV.

Absorptionsspektren,

beobachtet mit dem Vergleichsspektroskop von C. Zeiss.

1. Absorptionsspektrum einer sehr verdünnten Roh-Chlorophyllösung aus Grasblättern.

2—12. Absorptionsspektren der Farbstoffe von Purpurbakterien.

2—4. Absorptionsspektrum des Bakteriochlorins in Alkohol gelöst bei steigender Schichtendicke. Rhodobacillus palustris.

5. Absorptionsspektrum des Bakteriopurpurin α. in Schwefelkohlenstoff gelöst, Schichtendicke 10 mm. Rhodobacillus palustris.

6. Dasselbe, aber der Farbstoff gelöst in Chloroform.

7—8. Absorptionsspektrum des Bakteriopurpurin β. Farbstoff gelöst in Schwefelkohlenstoff. Bei 8 die Schichtendicke größer. Rhodospirillum sp.

9—10. Dasselbe, der Farbstoff aber in Chloroform gelöst.

11—12. Absorptionsspektren lebender Purpurbakterien, d. i. einer Massenkultur von Rhodospirillum sp. Bei 11 war die Schichtdicke 3 mm, bei 12 doppelt so hoch.

Weimar. — Druck von R. Wagner Sohn



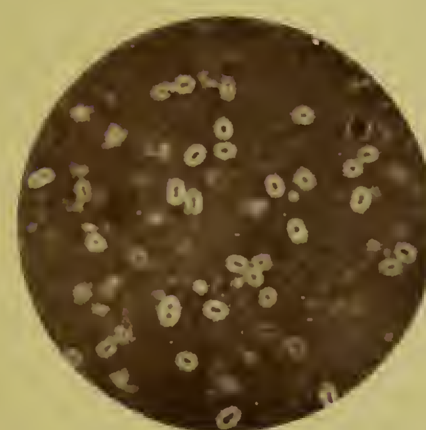
1



2



3



4



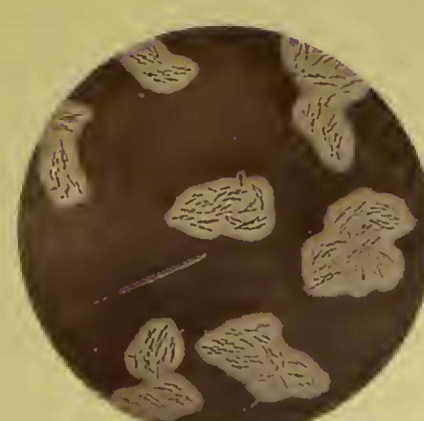
5



6



7

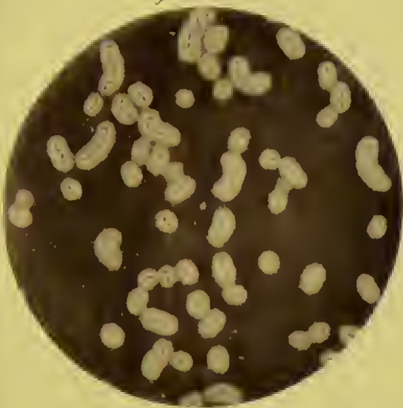


8

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

isch et O. Richter fec.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München



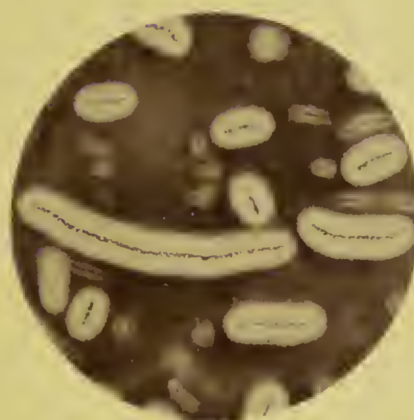
9



10



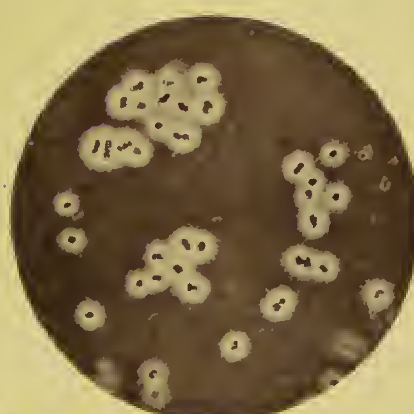
11



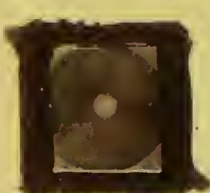
12



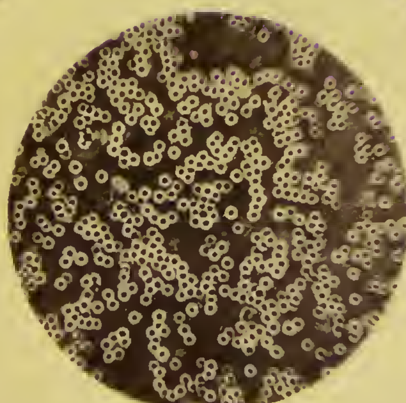
13



14



16



15



17

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Molisch et Ruttner fec.

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.



18

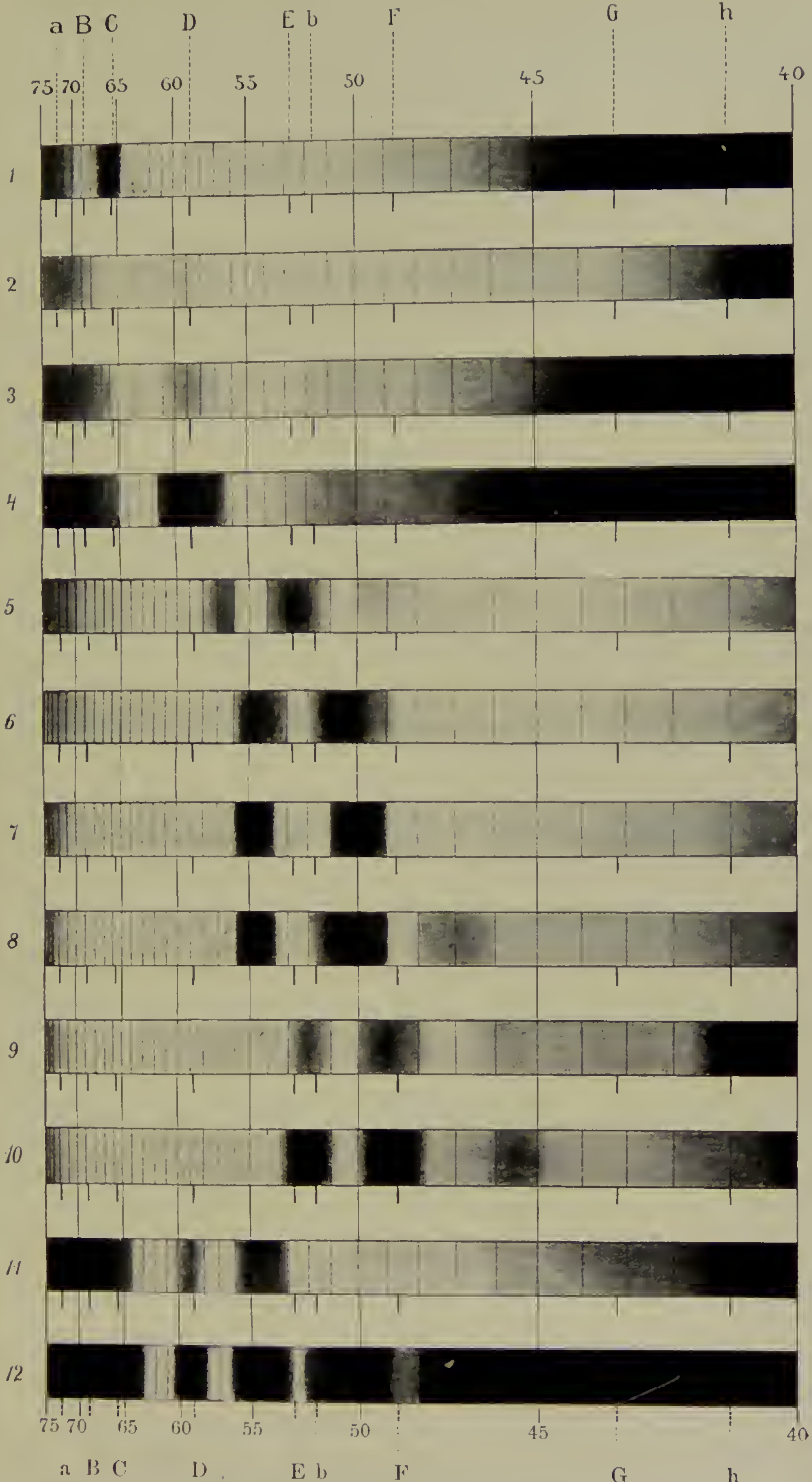


19.



20.

B resc gez. Gustav Fischer Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

43